

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera* L.)
DENGAN METODE DPPH, CUPRAC DAN FRAP**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Farmasi Jurusan Farmasipada Fakultas
Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

MUNADIAH
NIM. 70100113011

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR
2017**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Munadiah
NIM : 70100113011
Tempat Tanggal Lahir : Sinjai, 04 Juni 1995
Jurusan : Farmasi
Alamat : Jl. Toddopuli 2. No.30
Judul : Penentuan Kadar Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan
Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera* L.)
Dengan Metode DPPH, CUPRAC Dan FRAP

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-gowa, November 2017

Penyusun,



Munadiah
NIM. 70100113011

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul **"Penentuan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan Metode DPPH, CUPRAC dan FRAP"** yang disusun oleh **Munadiyah**, NIM: 70100113011, Mahasiswa Jurusan Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari **Kamis, 23 November 2017 M** yang bertepatan dengan **4 Rabi'ul Awwal 1439 H**, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.

Gowa, 23 November 2017 M
4 Rabi'ul Awwal 1439 H

DEWAN PENGUJI

Ketua	: Dr. dr. H. Andi Armyrn Nurdin, M.Sc.	(.....)
Sekretaris	: Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt.	(.....)
Pembimbing I	: Haerina, S.Si., M.Si.	(.....)
Pembimbing II	: Nurshalati Tahar, S.Farm., M.Si., Apt.	(.....)
Penguji I	: Karlina Amir Tahir, S.Si., M.Si., Apt.	(.....)
Penguji II	: Dra. Hamsiah Djafar, M.Hum.	(.....)



Dr. dr. H. Andi Armyrn Nurdin, M.Sc.
NIP. 19550203 198312 1 001

KATA PENGANTAR



Assalāmu ‘alaikum warahmatullāhi wabarakātuh

Segala puji hanya milik Allah swt., Tuhan Semesta Alam Maha Pencipta dan Maha Segala Sesuatu. Sebagai hamba-Nya patutlah kita bersyukur karena telah diberikan banyak kelimpahan dan kenikmatan kepada kita sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Tak lupa pula tetap terhaturkan salawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW. karena berkatnyalah kita dapat merasakan indahnya Islam dimana ia telah membawa kita dari zaman jahiliyah hingga zaman Islamiyah seperti sekarang ini. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Penghargaan yang setinggi-tingginya dan rasa terimakasih penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda Mujahid dan Ibunda St.Nuraeniyang tak henti-hentinya memberi doa dan motivasi serta dukungannya baik dalam bentuk moril terlebih lagi dalam bentuk materil, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik karena kasih sayang dan bimbingan beliau, dan buat keluarga saudaraku tercinta Mutmainnah,Musdalifah dan Mutahharah. Serta seluruh keluarga besar penulis yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, terima kasih atas doa, kasih sayang dan bimbingannya kepada penulis, tiada kata yang pantas untuk mengungkapkan betapa besar cinta dan kasih sayang yang telah kalian berikan.

Mereka adalah semangat terbesar bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah swt senantiasa memberikan rahmat dan perlindungan-Nya.

Penulis tak lupa menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya sebagai ungkapan kebahagiaan kepada Bapak/Ibu:

1. Bapak Prof. Dr. Musafir Pababbari, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah memberikan kesempatan menyelesaikan studi di UIN Alauddin Makassar.
2. Bapak Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
3. Ibu Dr. Nur Hidayah, S.Kep., Ns., M.Kes., selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
4. Ibu Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes., selaku Wakil Dekan II Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
5. Bapak Prof. Dr. Mukhtar Lutfi, M.Pd., selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
6. Ibu Haeria, S.Si.,M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar Fakultas Ilmu Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar sekaligus sebagai pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Ibu Nurshalati Tahar, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

8. Ibu Karlina Amir Tahir, S.Si.,M.,Si.,Apt selaku penguji kompetensi yang telah memberi banyak masukan dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
9. Ibu Dra. Hamsiah Djafar, M. Hum. selaku penguji agama yang telah banyak memberikan tuntunan dan pengarahan dalam mengoreksi seluruh kekurangan pada skripsi ini.
10. Keluarga Besar FARBION Farmasi 2013 UIN Alauddin Makassar
11. Keluarga besar Farmasi UIN Alauddin Makassar yang juga selalu memberi dukungan, serta pihak-pihak yang tidak sempat dituliskan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Namun besar harapan kiranya dapat bermanfaat bagi penelitian-penelitian selanjutnya, khususnya di bidang farmasi dan semoga bernilai ibadah di sisi Allah swt. Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalammu ‘alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Samata-Gowa, November 2017

Penyusun



Munadiah

NIM : 70100113011

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GRAFIK.....	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Definisi Operasional Dan Ruang Lingkup Penelitian.....	5
D. Kajian Pustaka.....	6
E. Tujuan dan Kegunaan Penelitian	8
F. Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A. Uraian Tanaman	9
B. Radikal Bebas dan Antioksidan	14
C. Senyawa Metabolit Sekunder Sebagai Antioksidan	16
D. Pengujian Kapasitas Antioksidan.....	21

E. Ekstraksi	23
F. Spektrofotometri UV-Vis.....	29
G. Tinjauan Islam.....	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	35
A. Jenis dan Lokasi Penelitian	35
B. Pendekatan Penelitian	35
C. Populasi dan Sampel	35
D. Instrumen Penelitian.....	36
E. Metode Pengumpulan Data dan Teknik Pengolahan	36
F. Analisis Data	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
A. Hasil Penelitian.....	45
B. Pembahasan.....	47
BAB V PENUTUP.....	55
A. Kesimpulan.....	55
B. Implikasi Penelitian	55
KEPUSTAKAAN	56
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	59
RIWAYAT HIDUP.....	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Struktur Umum Flavonoid	16
Gambar 2	Struktur Umum Kuersetin	19
Gambar 3	Struktur Umum Polifenol	20
Gambar 4	Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH	22
Gambar 5	Mekanisme Reaksi Metod CUPRAC	23
Gambar 6	Mekanisme Reaksi Metod FRAP	24
Gambar 7	Pohon Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	85
Gambar 8	Simplisia Kulit Batang Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L)	85
Gambar 9	Proses Maserasi	85
Gambar 10	Proses Evaporasi	86
Gambar 11	Ekstrak Kulit Batang Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	86
Gambar 12	Deret Konsentrasi Larutan Standar Kuersetin	86
Gambar 13	Larutan Uji Sampel Kulit Batang Kelor	87
Gambar 14	Larutan Stok Trolox®	87
Gambar 15	Deret Konsentrasi Trolox® untuk Uji DPPH	87
Gambar 16	Larutan Stok Sampel Uji DPPH	88
Gambar 17	Larutan Uji Sampel Metode DPPH	88
Gambar 18	Deret Konsentrasi Trolox® untuk Uji CUPRAC	88
Gambar 19	Larutan Stok Sampel Uji CUPRAC	89
Gambar 20	Larutan Uji Sampel Metode CUPRAC	89
Gambar 21	Deret Konsentrasi Trolox® untuk Uji FRAP	89
Gambar 22	Larutan Uji Sampel Metode FRAP	89

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja.....	59
Lampiran 2	Perhitungan	68
Lampiran 3	Gambar Pengamatan	85



DAFTAR TABEL

Tabel 1	Hasil Ekstraksi Kulit Batang Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	45
Tabel 2	Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	45
Tabel 3	Kapasitas Amtioksidan Metode DPPH	45
Tabel 4	Kapasitas Amtioksidan Metode CUPRAC	46
Tabel 5	Kapasitas Amtioksidan Metode FRAP	46
Tabel 6	Hasil Running Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin .	81
Tabel 7	Data Kurva Baku Kuersetin	82
Tabel 8	Data Kurva Baku Trolox Metode DPPH	82
Tabel 9	Data Kurva Baku Metode CUPRAC.....	83
Tabel 10	Data Kurva Baku Metode FRAP.....	84



DAFTAR GRAFIK

Grafik 1	Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin	81
Grafik 2	Kurva Baku Kuersetin.....	82
Grafik 3	Kurva Baku Trolox Metode DPPH.....	83
Grafik 4	Kurva Baku Trolox Metode CUPRAC	83
Grafik 5	Kurva Baku Trolox Metode FRAP	84



ABSTRAK

Judul Skripsi : Penetapan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Metode DPPH, CUPRAC, FRAP
Nama Penyusun : Munadiah
NIM : 70100113011

Tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) sering disebut “*miracle tree*” dikarenakan semua bagian tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat. mulai dari daun, kulit batang, biji hingga akarnya, tumbuhan ini sudah dikenal luas sebagai tumbuhan obat. Kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin.. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid dan kapasitas antioksidan dari kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). Pengukuran kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan 3 metode yaitu CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*), DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), dan FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). Hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) mengandung kadar flavonoid sebesar 20,17 mg QE/g Ekstrak dan untuk kapasitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu 20,97 mg Tr/g Ekstrak, metode CUPRAC didapatkan hasil 4,82 mg Tr/g Ekstrak dan metode FRAP yaitu 2,49 mg Tr/g Ekstrak.

Kata Kunci : Antioksidan, CUPRAC, DPPH, Flavonoid, FRAP.

ABSTRACT

Title : Determination of Total Flavonoid Level and Antioxidant Capacity of Clarifier Tree (*Moringa oleifera*) Cortex Ethanol Extract Using DPPH, CUPRAC and FRAP Methods

Writer : Munadiah

Reg. No : 70100113011

The Clafier Tree (*Moringa oleifera* L.) is often called the "miracle tree" because all parts of Moringa plant is very beneficial to people's lives. ranging from leaves, bark, seeds to its roots, the plant is well known as a medicinal plant. Cortex of clafier tree (*Moringa oleifera* L.) containing steroid compounds, flavonoids, alkaloids, phenolics and tannins. This study purpose to detected flavonoid level and antioxidant capacity of Clarifier tree (*Moringa oleifera*) cortex. Measurement of antioxidant capacity was performed used 3 methods such as CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*), DPPH (*1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), and FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). The results showed that Clarifier tree (*Moringa oleifera*) cortex ethanol extract contained flavonoid levels was 20.1 mg QE/g Extract and for antioxidant capacity by DPPH method was 20.97 mg Tr/g Extract, CUPRAC method was 4,82 mg Tr/g Extract and FRAP method is 2.49 mg Tr/g Extract.

Keyword : antioxidant, flavonoid, DPPH, CUPRAC dan FRAP

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di dalam tubuh kita setiap saat terjadi reaksi oksidasi sehingga memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel. Tetapi reaktivitas radikal bebas tersebut dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Oksidasi merupakan proses alami yang dapat terjadi ketika suatu zat berikatan dengan oksigen (Wijayanti, 2011: 1).

Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan adalah pohon kelor (*Moringa oleifera* L). Tumbuhan kelor sering disebut “*miracle tree*” dikarenakan semua bagian tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat. Mulai dari daun, kulit batang, biji hingga akarnya, tumbuhan ini sudah dikenal luas sebagai tumbuhan obat. Akar kelor diolah untuk obat luar penyakit beri-beri, serta daunnya digunakan untuk obat kulit. Sementara untuk obat dalam, sering dimanfaatkan untuk penyakit rematik, epilepsi, kekurangan vitamin C, gangguan atau infeksi saluran kemih, bahkan sampai penyakit kelamin “gonorrhoea” (Jonni, 2008:39). Allah swt. Berfirman dalam Q.S. Al-An’am/6: 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا

مُتْرَاكِبًا وَمِنْ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ

مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Terjemahnya :

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Kementrian Agama RI, 2012).

Ayat di atas mengingatkan kita pada tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan

Allah yang telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang penuh dengan manfaat, keunikan dan kegunaan untuk kesejahteraan umat manusia (Shihab, 2009). ‘Aidh Al-Qarni (2008) menjelaskan bahwa Allah swt semata yang menciptakan kebun-kebun yang luas dan taman-taman yang menghijau yang terdiri dari berbagai jenis pohon. Diantaranya ada yang tumbuh tinggi menjulang seperti kurma, tanaman pertanian, zaitun, dan delima, namun diantaranya ada pula yang tidak tumbuh tinggi. Allah menciptakan segala sesuatu mempunyai tujuan, adanya tumbuhan yang berwarna mengisyaratkan adanya perbedaan dari setiap tujuan penciptaan-Nya.

Salah satu tumbuhan yang sesuai dengan ayat di atas yaitu Kelor (*Moringa oleifera* L) Yang memiliki banyak manfaat bagi masyarakat mulai dari daun, biji, akar dan batangnya. Bahkan masih banyak lagi tanaman yang belum dikenal sama sekali manfaatnya oleh manusia.

Menurut Ikalinus (2015) berdasarkan skrining fitokimia, ekstrak etanol kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin. Kandungan kimia flavonoid, Steroid, alkaloid dan fenolik memiliki fungsi sebagai antidiabetik, antioksidan, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi.

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus $-OH$ dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Ikalinus, 2015: 75). Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini dapat dimasukkan sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol, etanol, butanol dan etil asetat (Hanani, 2016: 103). Flavonoid sebagai antioksidan membantu menetralkan dan menstabilkan radikal bebas sehingga tidak merusak sel-sel jaringan dan memberi perlindungan terhadap kanker, penyakit jantung, diabetes dan lain-lain.

Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel melawan kerusakan akibat oksigen reaktif. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksigen reaktif mengakibatkan stres oksidatif yang menimbulkan kerusakan sel (Haris, 2011: 4). Antioksidan menarik bagi para ahli biologi dan dokter karena membantu melindungi tubuh manusia terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas reaktif yang dihasilkan dalam atherosclerosis, penyakit jantung iskemik, kanker, penyakit Alzheimer, penyakit Parkinson dan bahkan dalam proses penuaan. Ada banyak bukti bahwa produk alami dan turunannya memiliki

efisiensi karakteristik antioksidan, yang terkait untuk antikanker, hipolipidemik, antiaging (anti penuaan) dan kegiatan antiinflamasi (Asgarpanah, 2013: 156).

Antioksidan yang kita kenal ada dua jenis yaitu antioksidan alami yaitu antioksidan yang diperoleh dari bahan alami contohnya betakaroten, vitamin C dan vitamin E, sedangkan antioksidan sintetis yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil reaksi kimia contohnya BHA (Butyl Hidroksi Anisol), BHT (Butyl Hidroksi Toluena), TBHQ (Tert-Butil Hidroksi Quinon). Sumber antioksidan alami dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayur-sayuran yang kita konsumsi sehari-hari (Haris, 2011: 4)

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yaitu DPPH (*1,1-difenil-1- pikrilhidrazil*), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) dan CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*).

Berdasarkan potensi yang dimiliki oleh kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) yang mengandung komponen bioaktif yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan, sehingga dapat dikembangkan dan dimanfaatkan pada berbagai produk pangan, pengawet makanan alami dan suplemen makanan yang dapat menghambat radikal bebas pada tubuh manusia, dan untuk mencegah berbagai penyakit.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini akan dilakukan penentuan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) dengan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan masalah penelitian berikut:

1. Berapa kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L)?
2. Berapa kapasitas antioksidan ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) menggunakan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup

1. Definisi Operasional

- a. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik.
- b. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan.. Ekstrak Kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) merupakan hasil ekstrak yang dibuat dengan mengekstraksi menggunakan pelarut dengan metode maserasi, lalu pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.
- c. Kapasitas antioksidan adalah kemampuan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi.

- d. CUPRAC adalah metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan bis(neokuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ yang berwarna kuning. Metode ini merupakan metode pengujian antioksidan yang sederhana dan rendah biaya.
- e. DPPH adalah metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan 1,1 difenil-1-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hydrogen oleh DPPH dari zat antioksidan.
- f. FRAP adalah metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besiligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$ yang berwarna kuning.

2. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah Penentuan Kadar Flavanoid dan Kapasitas Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) menggunakan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP.

D. Kajian Pustaka

1. Menurut penelitian Ikalinus (2015) dengan judul “Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*)” menggunakan ekstrak etanol 96% dengan metode maserasi sehingga diperoleh hasil bahwa

kulit batang kelor mengandung metabolit sekunder berupa adanya steroid, flavonoid, alkaloid, fenol, dan tanin.

2. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Niken Widyastuti (2010) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP Serta Korelasinya Dengan Fenol Dan Flavonoid Pada Enam Tanaman diperoleh hasil bahwa Dari ekstrak etanol 70% 6 jenis tanaman obat, yaitu, kumis kucing, tempuyung, sidaguri, jati belanda, sambiloto, dan kedaung diketahui bahwa semua tanaman tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP berbeda nyata secara statistika. Walaupun demikian metode CUPRAC dan FRAP memberikan urutan aktivitas antioksidan yang sama dari enam tanaman. Kandungan total fenol tidak memiliki korelasi dengan total flavonoidnya tetapi memiliki korelasi yang kuat dan searah dengan aktivitas antioksidannya.

3. Penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Haris (2011) penetapan kadar flavonoid total dan aktifitas antioksidan pada daun dewa (*Gynura pseudochina* [Lour.] DC) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel. Metode ini dapat digunakan untuk penentuan kadar flavonoid total yang dihitung sebagai kuersetin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total dalam daun dewa adalah 0,0627% b/b dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ terhadap DPPH pada konsentrasi ekstrak 246,390 µg/mL.

E. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Penelitian

- a. Menentukan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L).
- b. Mengetahui besarnya kapasitas antioksidan dari ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oelifera* L) menggunakan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP.

2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bukti ilmiah tentang penentuan kadar flavanoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) menggunakan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Sampel

1. Klasifikasi Tanaman (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2008: 8)

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lam

2. Nama Lain

Menurut Kurniasih (2010) Kelor yang memiliki nama latin *Moringa oleifera* Lamm. Adapun nama tanaman kelor diberbagai negara yaitu Marum (Thailand); Cedro (Brazil); Sajina (Bangladesh); Angela (Colombia); dan Ewe ile (Nigeria). Di Indonesia saja dikenal dengan beberapa nama daerah yaitu kelor (Sunda, Melayu); kero, wori, kelo, kelo (Sulawesi); maronggi (Madura); Murong (Aceh); Kelo (Ternate); Kawona (Sumbawa); Mungai (Minang) (Kurniasih, 2010: 27).

3. Penyebaran

Kelor merupakan tanaman asli kaki bukit himalaya Asia Selatan, dari timur laut Pakistan (33°N, 73°E) sebelah utara Bengala Barat di India dan Timur Laut Bangladesh dimana sering ditemukan pada ketinggian 1400 m dari permukaan laut. Kelor dibudidayakan dan telah beradaptasi dengan baik di luar jangkauan daerah asalnya, termasuk seluruh Asia Selatan, dan dibanyak negara Asia Tenggara, Semenanjung Arab, Tropis Afrika, Amerika Tengah, Karibia dan tropis Amerika Selatan (Kurniasih, 2010: 27)

Pada mulanya, sebagian besar kelor tumbuh liar. Kini seiring dengan menyebarnya informasi tentang manfaat dan khasiatnya, kelor mulai dibudidayakan untuk diambil polong yang dapat dimakan, daun, bunga, akar, bijinya untuk dibuat minyak, dan digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional di seluruh negara di mana tanaman ini tumbuh dengan baik (Kurniasih, 2010: 28)

4. Morfologi (Kurniasih, 2010: 28-30)

a. Akar (Radix)

Tanaman kelor memiliki akar tunggang, berwarna putih. Kulit akar berasa pedas dan berbau tajam, dari dalam berwarna kuning pucat, bergaris halus tapi terang dan melintang. Tidak keras, bentuk tidak beraturan, permukaan luar kulit agak licin, permukaan dalam agak berserabut, bagian kayu warna cokelat muda, atau krem berserabut, sebagian besar terpisah. Akar tunggang berwarna putih, membesar seperti lobak (Kurniasih, 2010: 28).

b. Batang (caulis)

Kelor termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki ketinggian batang 7-12 meter. Merupakan tumbuhan yang berbatang dan termasuk jenis batang berkayu, sehingga batangnya keras dan kuat. Bentuknya sendiri adalah bulat (teres) dan permukaannya kasar. Arah tumbuhnya lurus ke atas atau biasa disebut dengan tegak lurus (*erectus*) (Kurniasih, 2010: 29).

c. Daun (Folium)

Kelor memiliki daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun saat muda berwarna hijau muda, setelah dewasa hijau tua, bentuk helai daun bulat telur, panjang 1-2 cm, lebar 1-2 cm, tipis lemas, ujung dan pangkal tumpul (*obtusus*), tepi rata, susunan pertulangan menyirip (*pinnate*), permukaan atas dan bawah halus. Daun kelor termasuk jenis daun bertangkai karena hanya terdiri atas tangkai dan helaian saja. Tangkai daun berbentuk silinder dengan sisi atas agak pipih, menebal pada pangkalnya dan permukaannya halus. Bangun daunnya berbentuk bulat atau bundar (*orbicularis*), pangkal daunnya tidak bertoreh dan termasuk ke dalam bentuk bangun bulat telur. Ujung dan pangkal daunnya membulat (*rotundatus*) di mana ujungnya tumpul dan tidak membentuk sudut sama sekali hingga ujung daun merupakan semacam suatu busur (Kurniasih, 2010: 29)

d. Bunga

Bunga kelor muncul diketiak daun (*axillaris*), bertangkai panjang, kelopak berwarna putih kekuning-kuningan terkumpul dalam pucuk lembaga di

bagian ketiak dan tudung pelepah bunganya berwarna hijau. Malai terkulai 10-15 cm, memiliki 5 kelopak yang mengelilingi 5 benang sari dan 5 staminodia. Bunga kelor keluar sepanjang tahun dengan aroma bau semerbak.

e. Buah atau polong

Kelor berbuah setelah berumur 12-18 bulan. Buah atau polong kelor berbentuk segitiga memanjang yang disebut klentang (Jawa) dengan panjang 20-60 cm. Ketika muda berwarna hijau, setelah tua menjadi coklat. Biji di dalam polong berbentuk bulat, ketika muda berwarna hijau terang dan berubah berwarna coklat kehitaman ketika polong matang dan kering. Ketika kering, polong membuka menjadi 3 bagian. Dalam setiap polong rata-rata berisi antara 12 dan 35 biji (Kurniasih, 2010: 30)

f. Biji

Biji kelor berbentuk bulat dengan lambung semi-permeabel berwarna kecoklatan. Lambung sendiri memiliki tiga sayap putih yang menjalar dari atas ke bawah. Setiap pohon dapat menghasilkan antara 15.000 hingga 25.000 biji/tahun. Berat rata-rata per biji adalah 0,3 g (Kurniasih, 2010: 30)

5. Khasiat

Kelor (*Moringa oleifera* L) digunakan untuk pengobatan tradisional di berbagai negara yaitu untuk mengobati infeksi kulit, anemia, asma, kegelisahan, bronchitis, radang selaput lendir di hidung dan tenggorokan, kolera, sesak nafas, kongjungtivitis, batuk, diare, infeksi mata dan telinga, demam, gangguan jaringan kelenjar, pembengkakan, sakit kepala, tekanan darah tidak normal,

gangguan saraf, nyeri sendi, jerawat, psoriasis (penyakit kulit), gangguan pernapasan, kudis, sakit tenggorokan, keseleo, tuberculosi, cacangan, laktasi, diabetes dan kehamilan. Minyak kelor telah digunakan sebagai pengobatan sejak zaman kuno. Minyak kelor banyak digunakan pada kosmemtik dan digunakan untuk badan dan rambut sebagai pelembab dan pelembut kulit. Minyak kelor digunakan dalam sediaan untuk kulit dan salep sejak zaman mesir kuno (Mahmood, 2010: 776).

6. Kandungan kimia

Daun kelor sangat kaya akan nutrisi, diantaranya kalsium, besi, protein, vitamin A, vitamin B, dan Vitamin C. Selain itu, daun kelor mengandung berbagai macam asam amino antara lain asam amino yang berbentuk asam aspartat, asam glutamat, alanin, valinr, leusin, isoleusin, histidin, lisin, arginin, venilalanin, triptopan, sistein dan methionin (Aminah, 2015: 35). Berdasarkan penelitian Verma et al, (2009) bahwa daun kelor mengandung fenol dalam jumlah yang banyak yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas. Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6%. Daun kelor mengandung vitamin karatenoid, flavanoid, alkaloid, glukosinolat, tanin dan saponin (Leone, 2015: 34).

Menurut Ikalinus (2015) berdasarkan skrining fitokimia, ekstrak etanol kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan

tanin. Kandungan kimia flavonoid memiliki fungsi sebagai antidiabetik, antioksidan, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi.

B. Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga relatif tidak stabil. Atom atau molekul tersebut bersifat reaktif mencari pasangan elektron disekitarnya untuk menstabilkan diri atau sering disebut *reactive oxygen species* (ROS) (Ardhie, 2011) sifat sangat reaktif yang dimiliki oleh radikal bebas menyebabkan radikal ini dapat bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat dan DNA untuk memperoleh kembali pasangan elektronnya dan menjadi stabil (Badarinath, 2010: 1276).

Radikal bebas sama alamiahnya dengan kita menghirup udara. Biasanya tubuh memiliki sistem pertahanan alami untuk menetralkan radikal bebas agar tidak berkembang dan menjadi berbahaya bagi tubuh. Namun, pengaruh lingkungan dan kebiasaan buruk seperti radiasi ultraviolet, polusi, kebiasaan mengonsumsi makanan siap saji dan merokok, dapat membuat sistem pertahanan tubuh tidak mampu menghadapi radikal bebas yang berjumlah besar (Kurniasih, 2010: 45).

Efek berbahaya dari radikal bebas menyebabkan potensi kerusakan biologis yang disebut dengan oxidative stress dan nitrosative stress. Efek tersebut terjadi dalam sistem biologis bila ada produksi lebih dari ROS/RNS. Oksidative stress dapat merusak jaringan lipid, protein, atau DNA seluler sehingga menghambat fungsi normal mereka. Maka oxidative stress dapat disimpulkan terlibat dalam menimbulkan sejumlah penyakit pada manusia serta dalam proses penuaan (Valko, 2006).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi electron (electron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsih, 2007: 13). Senyawa antioksidan seperti asam fenolik, polifenol, dan flavanoid dapat meredam radikal bebas peroksida, hidroperoksida atau lipid peroksidil dan menghambat mekanisme oksidatif yang menimbulkan penyakit degenerative (Prakash, 2001: 1)

Berdasarkan sifatnya antioksidan dibagi menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan terhadap kerusakan oksidatif dalam sel. Contoh antioksidan enzimatis adalah superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion reduktase dan glutathion peroksidase. Sedangkan antioksidan non-enzimatis merupakan antioksidan yang mempertahankan membran sel, seperti vitamin C di fase air, vitamin E, ubiquinol di fase lipid, karotenoid (β -karoten), glutathion, bilirubin, albumin, transferin/laktoferin/seruloplasmin, ferritin, sistein dan flavanoid (Ardhie, 2011: 5).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis. Antioksidan sintesis adalah antioksidan yang dibuat dengan melakukan sintesis kimia seperti TBHQ, BHT dan propyl galat. Antioksidan alami terdapat pada makanan sehari-hari, seperti buah dan sayur-sayuran yang mengandung berbagai senyawa-senyawa fenolik atau nitrogen

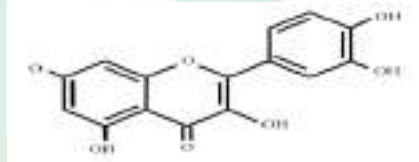
dan karotenoid. Antioksidan alami dapat melindungi tubuh manusia dari radikal bebas dan menurunkan terjadinya perkembangan penyakit kronis (Sing, 2007:3).

Keuntungan lainnya dari antioksidan, antara lain: (Kurniasih, 2010: 47)

- a. Memperkuat kekebalan tubuh agar tahan terhadap virus dan infeksi.
- b. Mengurangi kejadian semua jenis kanker.
- c. Mencegah terjadinya glaucoma dan degenerasi macular.
- d. Mengurangi resiko terhadap oksidasi kolesterol dan penyakit jantung
- e. Antipenuaan dari sel dan keseluruhan tubuh.

C. Senyawa Metabolit Sekunder Sebagai Antioksidan

1. Flavonoid



Gambar 1. Struktur Umum Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini dapat dimasukkan sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol, etanol, butanol dan etil asetat (Hanani, 2016: 103).

Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6- C3 (fenilpropana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida. Fragmen poliketida ini disusun dari tiga molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C6-C3 (sebagai koA tioester) untuk membentuk unit awal triketida. Oleh karena itu, flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida (Heinrich, 2010). Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, bunga, buah dan biji. Flavonoid terdiri dari beberapa golongan utama antara lain antosianin, flavanol dan flavon yang tersebar luas dalam tumbuhan. Sedangkan khalkon, auron, flavonol, dihidrokhalkon, dan isoflavon penyebarannya hanya terbatas pada golongan tertentu saja (Malik, 2014: 1).

Senyawa flavonoid diduga sangat bermanfaat dalam makanan karena, berupa senyawa fenolik, senyawa ini yang bersifat antioksidan kuat. Banyak kondisi penyakit yang diketahui bertambah parah oleh adanya radikal bebas seperti superoksida dan hidroksil, dan flavonoid memiliki kemampuan untuk menghilangkan spesies pengoksidasi yang merusak ini. Oleh karena itu, makanan yang kaya flavonoid dianggap penting untuk mengobati penyakit-penyakit, seperti kanker dan penyakit jantung (Heinrich., 2010).

Manfaat utama flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan yang bisa menghambat proses penuaan dan mencegah berkembangnya sel kanker. Selain itu flavonoid juga berfungsi sebagai :

1. melindungi struktur sel dalam tubuh

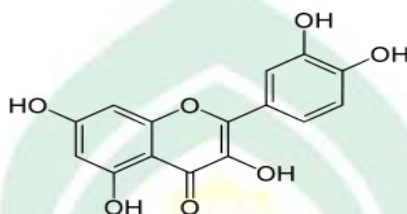
2. meningkatkan penyerapan dan penggunaan vitamin C dalam tubuh
3. sebagai obat anti inflamasi
4. mencegah pengeroposan tulang
5. sebagai antibiotik
6. sebagai antivirus, bahkan fungsinya sebagai antivirus HIV/AIDS telah banyak diketahui dan dipublikasikan
7. menghambat pertumbuhan kolesterol jahat LDL dalam darah
8. mencegah terjadinya atherosklerosis, suatu keadaan di mana dinding arteri menjadi lebih tebal
9. membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh
10. sebagai pencegah terjadinya beberapa macam penyakit
11. untuk mengobati beberapa macam penyakit

Flavanoid memiliki sifat antioksidan. Senyawa ini berperan sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil. Karna bersifat sebagai reduktor, flavanoid dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas. Senyawa flavonoid seperti kuersetin, morin, mirisetin, kaemferol, asam malat, dan asam elagat merupakan antioksidan kuat yang dapat melindungi makanan dari kerusakan oksidatif (Silalahi, 2006: 54).

Kuersetin adalah molekul flavonol dimana merupakan salah satu jenis flavanoid yang aktif sebagai antioksidan. Sifat antioksidan dari senyawa kuersetin mampu menghibisi proses karsinogenesis. Senyawa karsinogen merupakan senyawa yang mampu mengoksidasi DNA sehingga terjadi mutasi. Kuersetin sebagai

antioksidan dapat mencegah terjadinya oksidasi pada fase inisiasi maupun propagasi (Winarsi, 2007:192).

Kuersetin adalah senyawa flavonoid yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan didistribusikan secara luas dalam buah-buahan dan sayur-sayuran yang dapat dimakan. Berikut merupakan rumus struktur kuersetin (Coskun *et al.*, 2004: 37) :



Gambar 2. Rumus struktur kuersetin

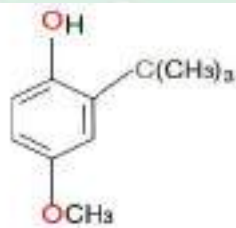
Dilihat dari struktur kimianya, kuersetin memiliki aktivitas kuat sebagai pemberi hidrogen karena kandungan hidroksilasi yang cukup, yakni 5 gugus OH dan lokasi gugus hidroksilnya terdapat pada sisi aktif (C5, C7, C3', dan C4). Kuersetin oleh sejumlah ahli kesehatan dipertimbangkan sebagai fitoestrogen yang memiliki fungsi yang sama dengan estrogen yang diyakini memiliki efek antiestrogenik untuk mengurangi resiko kanker (Silalahi, 2006: 55).

2. Polifenol

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Sampai saat ini, minat penelitian terhadap senyawa fenolik meningkat karena kemampuan 'scavenging' terhadap radikal bebas. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini (Harborne, 1993). Polifenol adalah

produk sekunder dari metabolisme tanaman. Senyawa antioksidan alami polifenol adalah multifungsional, dapat berfungsi sebagai (Aulia, 2009).

- a) Pereduksi atau donor elektron
- b) Penangkap radikal bebas,
- c) Pengkelat logam, dan
- d) Peredam terbentuknya singlet oksigen.



Gambar 3. Struktur Kimia Polifenol

3. Vitamin A

Untuk pertumbuhan dan perkembangan tubuh sangat diperlukan vitamin A untuk fungsi sistem imun dan proses penglihatan. Menurut Astawan dan Kasih (2008), beta-karoten mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang dapat berperan penting dalam menstabilkan radikal berinti karbon, sehingga mengurangi resiko terjadinya kanker. Salah satu keunikan sifat antioksidan beta-karoten adalah efektif pada konsentrasi rendah oksigen, sehingga dapat melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi tinggi oksigen. Beta-karoten juga dapat meningkatkan komunitas antarsel didalam tubuh sehingga dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Kandungan beta-karoten pada bahan pangan alami dapat mengurangi resiko terjadinya *stroke*. Hal tersebut disebabkan oleh aktifitas beta karoten yang dapat mencegah terjadinya plak atau timbunan kolesterol di dalam pembuluh darah.

4. Karotenoid

Karoten merupakan karotenoid hidrokarbon contohnya β -karoten dan likopen, sedangkan xantofil merupakan turunan teroksidasinya, yang umumnya berupa hidroksi, epoksi, metoksi, aldehyd, dan ester. Contoh xantofil ini adalah lutein, dan zeaxantin. (Gross, 1991; Arab *et al.*, 2001). Ditambahkan Winarsi (2007) Karotenoid tersusun atas likopen, β -karoten, lutein, zeaxanthin, dan cryptoxanthin. Beberapa manfaat dari senyawa karotenoid, adalah sebagai prekursor vitamin A, antioksidan, peningkatan daya tahan tubuh, dan pengubahan metabolisme kanker (Arab *et al.*, 2001; Gross, 1991; Zeb dan Mehmod, 2004; Yan, 1998). Selain itu beberapa golongan karotenoid juga dimanfaatkan sebagai pewarna makanan (Mac- Dougall, 2002).

D. Uji Kapasitas Antioksidan

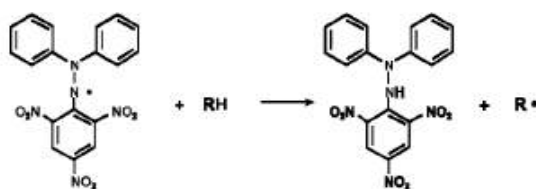
Pengukuran antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya DPPH, CUPRAC dan FRAP.

Tes kapasitas antioksidan (aktivitas antioksidan dapat secara luas) diklasifikasikan sebagai transfer electron (TE) dan transfer atom hydrogen (TAH) berdasarkan tes. Sebagian besar tes TAH berbasis kinetika dan melibatkan skema reaksi kompetitif di mana antioksidan dan substrat bersaing untuk radikal peroxy thermally dihasilkan melalui dekomposisi dari senyawa azo. Tes TE berdasarkan mengukur kapasitas antioksidan dalam pengurangan oksidan, yang berubah warna ketika berkurang. Tes TE mencakup metode ABTS/TEAC, CUPRAC, DPPH, Folin-

Ciocaltau dan FRAP masing-masing menggunakan reagen redoks khromogenik dengan potensi standar yang berbeda (Demirata dkk, 2007: 1496)

1. Metode DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam, interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer electron atau radikal hydrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organic terpusat adalah radikal bebas yang stabil dengan warna ungu yang ketika direduksi menjadi bentuk non radikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008).



Gambar 5. Mekanisme penghambatan radikal DPPH

Radikal bebas DPPH yang memiliki electron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna akan berubah menjadi warna kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna

mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, 2001)

2. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity).

Prinsip dari uji CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) adalah pembentukan kelat oleh bis (neukuproin) besi (II) menggunakan pereaksi redoks kromogenik pada pH 7. Absorbansi dari pembentukan kelat Cu(I) merupakan hasil reaksi redoks pada panjang gelombang 450 nm. Untuk spektrum Cu (I) Ne diperoleh dengan cara mereaksikan asam askorbat berbagai konsentrasi dengan reagen CUPRAC.



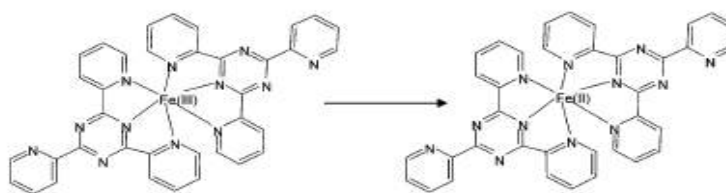
Gambar 6. Reaksi Metode CUPRAC

Kondisi reaksi seperti konsentrasi, reagen, pH, dan waktu oksidasi pada suhu kamar dan peningkatan suhu pada percobaan dapat berasal dari sumber lain. Kelebihan dari metode CUPRAC adalah pereaksi yang digunakan cukup cepat bekerja, selektif lebih stabil mudah didapatkan dan mudah diaplikasikan (Apak, 2004).

3. Metode FRAP

FRAP merupakan metode yang sensitive dalam pengukuran aktivitas antioksidan total cairan biologis yang segar (sampel), seperti homogenitas tanaman dan farmakologis produk tanaman. Aktivitas antioksidan dari sampel dikonfirmasi dengan sistem vitromodel (Szollosi, 2002:125).

Beberapa metode yang dikenal untuk mengukur kapasitas antioksidan total sampel biologis, yang tergantung pada pengurangan Ferri tripyridyltriazine (Fe(III)TPTZ) kompleks untuk Ferrous tripyridyltriazine (Fe(II)TPTZ) oleh reduktan pada pH rendah. (Fe(III)TPTZ) memiliki warna biru yang intensif dan dapat dipantau 593 nm (Szollosi, 2002:125).



Gambar 7. Reaksi metode FRAP

Penelitian ini menggunakan senyawa antioksidan sintetik berupa trolox yang digunakan sebagai kontrol positif karena diharapkan dapat memberikan aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan antioksidan alami (Widyastuti, 2010: 3).

Troloks atau senyawa 6-hidroksi-2,5,7,8- tetrametilkroman-2-asam karboksilat dengan bobot molekul 250,32 g/mol merupakan antioksidan sintetik. Secara struktur troloks serupa dengan α -tokoferol kecuali penggantian rantai samping hidrokarbon dengan gugus COOH . Troloks berupa bubuk berwarna putih sampai kuning dan memiliki titik leleh 189-195 °C. Senyawa ini stabil selama 2 bulan pada suhu 2-8 °C

dan mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan α -tokoferol, BHA, serta BHT (Belitz 1999). Troloks sering dipergunakan sebagai standar dalam pengukuran antioksidan. Koefisien TEAC (*troloks equivalent antioxidant capacity*) adalah konsentrasi troloks yang memiliki kapasitas antioksidan yang ekuivalen dengan sampel yang dianalisis. Kapasitas antioksidan dari setiap metode dinyatakan dalam $\mu\text{mol troloks/g ekstrak etanol tanaman}$ (Widyastuti, 2010).

E. Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Peran ekstraksi dalam analisis fitokimia sangat penting karena sejak tahap awal hingga akhir menggunakan proses ekstraksi, termasuk fraksinasi dan pemurnian. Ada beberapa istilah yang banyak digunakan dalam ekstraksi, antara lain ekstrak (yakni, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi), rafinat (yakni, larutan senyawa atau bahan yang akan diekstraksi), dan linarut (yakni, senyawa atau zat yang diinginkan terlarut dalam rafinat). Metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik, dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi (Hanani, 2015: 10).

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai. Ekstrak cair diperoleh dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari. Ekstrak kental akan didapat apabila sebagian besar cairan penyari sudah

diuapkan, sedangkan ekstrak kering akan diperoleh jika sudah tidak mengandung cairan penyari (Hanani, 2015: 13).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (Septiningsih, 2008: 24).

Etanol merupakan penyari yang bersifat universal yaitu dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Etanol adalah senyawa yang mudah menguap, jernih (tidak berwarna), berbau khas, dan menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Etanol mudah menguap baik pada suhu rendah maupun pada suhu mendidih (78°C), mudah terbakar serta larut dalam air, dan semua pelarut organik. Bobot jenis etanol tidak lebih dari 0,7964. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif dibandingkan air. Selain itu, kapang dan mikroba sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas. Etanol juga memiliki beberapa keuntungan lain yaitu tidak beracun, netral, absorpsi baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dan tidak memerlukan panas yang tinggi untuk pemekatan (Depkes RI, 1995). Penggunaan etanol sebagai cairan pengestraksi biasanya dicampur dengan pelarut lain, terutama campuran etanol dan air. Etanol yang paling baik untuk menghasilkan senyawa aktif yang optimal adalah etanol 70% (Voight, 1995: 969).

2. Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada berbagai cara ekstraksi yang telah diketahui. Masing- masing cara tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya. Pemilihan metode dilakukan dengan memerhatikan antara lain sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan merupakan factor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. Alkohol merupakan salah satu pelarut yang paling banyak dipakai untuk menyari secara total. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, refluks, soxhletasi, infusa, dekok, destilasi (Hanani, 2015: 11).

3. Mekanisme Ekstraksi

Umumnya zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan berdifusi keluar sel dan proses ini berulang terus sampai terjadi kesetimbangan antar konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel (Dirjen POM, 1986: 5)

4. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan di

dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2015: 11).

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dalam perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan bahan alam dalam pelarut tersebut (Lenny, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah:

a) Ukuran Bahan

Bahan yang akan diekstrak sebaiknya memiliki luas permukaan yang besar untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga ekstraksi berlangsung dengan baik (Hukmah, 2007).

b) Lama dan Suhu Ekstraksi

Lamanya waktu maserasi berbeda-beda tergantung pada sifat atau ciri campuran obat. Lamanya harus cukup supaya dapat memasuki semua rongga dari struktur sampel dan melarutkan semua zat yang mudah larut. Lamanya maserasi bisa memerlukan waktu beberapa jam atau beberapa hari untuk ekstraksi yang optimum (Ansel, 2005: 612).

Ekstraksi akan berlangsung cepat dilakukan pada suhu yang tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam rempah-

rempah akan mengalami kerusakan (Hijaz, 2009). Ekstraksi yang baik dilakukan pada kisaran suhu 20 °C sampai 80 °C tetapi suhu yang digunakan harus di bawah titik didih pelarut yang digunakan. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar sehingga hasil ekstraksi semakin bertambah banyak (Hukmah, 2007).

c) Jenis dan Konsentrasi Pelarut

Menurut (Hukmah, 2007), ada dua pertimbangan dalam memilih jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi, pelarut tidak berbahaya dan beracun. Pelarut yang paling aman adalah etanol.

F. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, dan diemisikan sebagai fungsi dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang di absorpsi (Khopkar, 2008: 184).

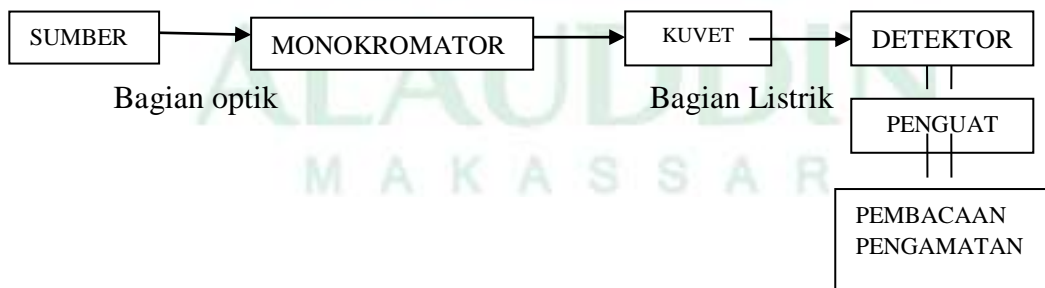
Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisi, direfleksikan atau dieliminasi sebagai fungsi dari panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dibandingkan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih selektif dan ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating ataupun celah optis. Spektrofotometer juga tersusun atas sumber spektrum yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan

sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur suatu perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Khopkar 2008: 215-216).

Berikut adalah Mekanisme kerja dari spektrofotometri UV-Vis (Rohman & Gholib, 2007: 262) :

Sumber radiasi yang berasal dari lampu filament tungsten maupun lampu deuterium diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator dan diubah dari cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas – berkas cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada sampel, sehingga menyebabkan cahaya ada yang diserap (diabsorpsi) dan ada yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Detektor selanjutnya akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif.

Unsur-unsur terpenting suatu spektrofotometer ditunjukkan secara skematik dalam gambar berikut:



Berikut ini adalah uraian bagian-bagian spektrofotometer:

1. Sumber-sumber lampu; lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau

lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

2. Monokromator: digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.
3. Kuvet: Pada pengukuran didaerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan. Kuvet yang bertutup digunakan untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogen.
4. Detektor: Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.
5. Suatu amplifier (penguat) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik dapat untuk diamati.
6. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik

G. Tinjauan Islam

Kesehatan merupakan sumber daya yang paling berharga, serta kekayaan yang paling mahal harganya. Ada sebagian orang yang menganggap bahwa agama tidak memiliki kepedulian terhadap kesehatan manusia. Anggapan semacam ini

didasari oleh pandangan bahwa agama hanya memperhatikan aspek-aspek rohani belaka tanpa mengindahkan aspek jasmania. Agama hanya memperhatikan hal-hal yang bersifat ukhrawi dan lalai terhadap segala sesuatu yang bersifat duniawi. Anggapan seperti ini tidak dibenarkan dalam ajaran agama Islam. Sebab pada kenyataannya Islam merupakan agama yang memperhatikan dua sisi kebaikan yaitu kebaikan duniawi dan ukhrawi.

Imam Al-Bukhari meriwayatkan dari Abu Hurairah *Radhiyatullahu Anhu* bahwa Rosulullah *Shallallahu alaihi wasallam* bersabda :

دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya :

“Setiap penyakit ada obatnya. Dan jika suatu obat mengena tepat pada penyakitnya ia akan sembuh dengan izin Allah ta’ala “.

Hadis di atas dapat ditarik sebuah pemahaman bahwa Allah swt menurunkan penyakit pasti ada obatnya. Kesembuhan seseorang dari penyakit yang diderita memang Allah swt yang menyembuhkannya, akan tetapi Allah swt menghendaki agar pengobatan itu dipelajari oleh ahlinya agar sesuai dengan penyakit yang akan di obati sehingga akan mempermudah penyembuhannya. Semua yang diciptakan Allah swt memiliki manfaat, termasuk tumbuh-tumbuhan. Untuk pemanfaatan tumbuhan tersebut, diperlukan ilmu dan pengalaman (teoritis dan empiris) dengan penelitian dan eksperimen. Salah satunya dalam pemanfaatannya sebagai obat (Wahyuni, 2013: 30). Allah swt. Berfirman dalam Q.S. Al-An’am/6: 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ
 مُتَرَكَبًا حَبًّا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا
 مُتَشَبِهًا وَغَيْرَ مُنْظَرٍ إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿١١﴾

Terjemahnya :

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Kementrian Agama RI, 2012).

Ayat ini merupakan lanjutan bukti-bukti dari kemahakuasaan Allah swt, ayat-ayat yang lalu mengarahkan manusia agar memandang sekelilingnya supaya dia dapat sampai pada kesimpulan bahwa Allah swt maha Esa dan kehadiran hari kiamat adalah keniscayaan. Pada ayat-ayat yang lain dipaparkan hal-hal yang terbentang di bumi, seperti pertumbuhan biji dan benih, atau yang berkaitan dengan langit, seperti matahari dan bulan serta dampak peredarannya yang menghasilkan antara lain malam dan siang, selanjutnya dipaparkan juga tentang manusia, asal-usul dan kehadirannya di bumi (Shihab, 2002: 573-576).

Ayat di atas mengingatkan kita pada tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah yang telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang penuh dengan manfaat, keunikan dan kegunaan untuk kesejahteraan umat manusia (Shihab, 2009). ‘Aidh Al-Qarni (2008) menjelaskan bahwa Allah swt semata yang menciptakan

kebun-kebun yang luas dan taman-taman yang menghijau yang terdiri dari berbagai jenis pohon. Diantaranya ada yang tumbuh tinggi menjulang seperti kurma, tanaman pertanian, zaitun, dan delima, namun diantaranya ada pula yang tidak tumbuh tinggi. Allah menciptakan segala sesuatu mempunyai tujuan, adanya tumbuhan yang berwarna mengisyaratkan adanya perbedaan dari setiap tujuan penciptaan-Nya.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian kuantitatif .

2. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Biologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar untuk melaksanakan proses pengolahan sampel Kulit Batang Daun Kelor (*Moringa olifera* L). Kemudian dilanjutkan menggunakan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar.

B. Pendekatan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan oleh penulis yaitu pendekatan dengan metode eksperimental. Metode eksperimental merupakan sebuah metode yang ingin mengetahui hubungan sebab akibat pada suatu variabel.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Kelor (*Moringa oleifera* L) yang berada di daerah Sinjai.

2. Sampel Penelitian

Kulit batang Kelor (*Moringa oleifera* L) yang merupakan bagian kulit batang tumbuhan.

D. Instrument Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong, desikator, erlenmayer (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), Gelas arloji, Kuvet, Labu tentu ukur (Pyrex), Neraca analitik (KERN), pH, Pipet tetes, Pipet mikro (Dragonlab), Pipet volume (Pyrex), Rotavapor (IKA RV 10), sendok tanduk, Sonikator (Krisbow), Spektrofotometri UV-Vis (APEL), toples, vial.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu aluminium (III) Klorida 2%, aquadest, buffer asetat pH 3,6, buffer amonium asetat pH 7, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), etanol 96%, ethanol p.a, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, HCl, kalium asetat 120 mM, kertas saring, kertas perkamen, Neokuproin etanolik, quersetin, simplisia kulit batang kelor, TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), troloks.

E. Metode Pengumpulan Data

1. Teknik Pengolahan

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari yang diperoleh dari daerah Sinjai.

b. Pengolahan Sampel

Kulit batang kelor (*Moringa Oleifera* L) yang telah dipilih, dibersihkan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa cahaya matahari

langsung, setelah dikeringkan dipotong-potong kecil, kemudian sampel siap untuk diekstraksi.

c. Ekstraksi Sampel (Ikalinus, 2015: 72)

Kulit batang kelor yang telah dikeringkan, dimaserasi dengan menggunakan etanol 96 %, dimasukkan ke dalam wadah, ditutup dan didiamkan selama 3 x 24 jam, tanpa terkena cahaya, setelah didiamkan selama 3 x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat. Maserat kemudian dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45-50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

2. Penentuan Kadar Flavanoid dalam Ekstrak dengan Metode AlCl_3

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1. Pembuatan Larutan Kalium Asetat 120 mM

Kalium asetat ditimbang sebanyak 0,294 mg dan dilarutkan dengan aquades hingga 25 mL.

2. Pembuatan Larutan Aluminium Klorida (AlCl_3) 2 %

Aluminium klorida ditimbang sebanyak 2 gram dan dilarutkan dengan aquades hingga 100 mL.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{Maks}) Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan melalui *running* larutan kuersetin pada range panjang gelombang UV-Vis 400-450nm. Dari hasil *running* kuersetin yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 435 nm dan data tersebut digunakan untuk

mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*).

c. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin (Aminah, 2016:227, Stankovic, 2011: 65)

Standar kuersetin ditimbang sebanyak 12,5 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol (500 ppm). Dari larutan standar kuersetin 500 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm dipipet 0,1 mL, 15 ppm dipipet 0,15 mL, 20 ppm dipipet 0,2 mL, 25 ppm dipipet 0,25 mL, 30 ppm dipipet 0,3 mL, dan 35 ppm dipipet 0,35 mL. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL AlCl_3 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 435 nm.

d. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*) (Aminah, 2016: 227, Stankovic, 2011: 65).

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 2 % dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 435 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi. Berdasarkan pengukuran absorbansi, konsentrasi flavonoid dibaca

dalam ($\mu\text{g/mL}$) garis kalibrasi, kemudian kandungan flavonoid dalam ekstrak dinyatakan dalam ekuivalen kuersetin (mgQE/g ekstrak).

3. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH (Luciana, 2001: 3)

a. Pembuatan larutan DPPH 0,343 mM

Ditimbang DPPH sebanyak 13,52 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a dengan menggunakan labu ukur 100 mL sehingga kadarnya 0,343 mM.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{Maks})

Pengujian dilakukan dengan mencampur 2,5 mL DPPH 0,343 mM dengan 1 mL etanol p.a dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm.

c. Pembuatan Kurva Baku Trolox®

Trolox® ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox® 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm dipipet 0,5 mL, 7 ppm dipipet 0,7 mL, 9 ppm dipipet 0,9 mL, 11 ppm dipipet 1,1 mL dan 13 ppm dipipet 1,3 mL. Dari masing-masing konsentrasi larutan Trolox® dipipet 2,5 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm.

d. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentuukur 5 mL. Dari larutan (500 ppm) dipipet 2,5 mL, ditambahkan 1 mL DPPH. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi.

4. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC (Apak, 2007: 1534)

a. Pembuatan Pereaksi CUPRAC

1) Pembuatan Larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M

Ditimbang 171 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL.

2) Pembuatan Larutan Neokuproin Etanolik 0,0075 M

Ditimbang 156 mg neokuproin kemudian dilarutkan ke dalam etanol p.a dengan menggunakan labu ukur 100 mL sehingga kadarnya 0,0075 M.

3) Pembuatan Larutan Buffer Amonium Asetat 1 M pH 7

Buffer amonium asetat sebanyak 7,708 g dilarutkan dengan aquadest hingga larut dalam labu tentuukur 100 mL.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{Maks})

Pengujian dilakukan dengan mencampur 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M, ditambahkan 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M, kemudian ditambahkan 1 mL etanol p.a dan ditambahkan 0,1 mL aquadest dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 448 nm.

c. Pembuatan Kurva Baku Trolox[®]

Trolox[®] ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox[®] 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm dipipet 1 mL, 20 ppm dipipet 2 mL, 30 ppm dipipet 3 mL, 40 ppm dipipet 4 mL dan 50 ppm dipipet 5 mL. Dibuat larutan dalam vial yaitu dipipet 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M, 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M kemudian ditambahkan 1 mL dari masing-masing konsentrasi trolox[®] dan 0,1 mL aquadest. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 448 nm.

d. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan

konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentuukur 5 mL., dibuat larutan yaitu 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M, 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M, ditambahkan 1mL sampel (500 ppm) dan 0,1 mL aquadest. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 448 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi.

5. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP (Widyastuti, 2010: 13)

a. Penyiapan Larutan Pereaksi

Reagent FRAP dengan mencampur Buffer Asetat 300 mM (pH 3,6), 10 mM TPTZ dalam 40 mM HCl dan 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pada perbandingan masing-masing 10:1:1.

1) Buffer Asetat pH 3,6

Dibuat dari 0,775 gram natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ditambahkan dengan 4 mL asam asetat P, dilarutkan dengan aquadest hingga tepat 250 mL dalam labu tentu ukur..

2) TPTZ 10 mM

Dibuat dengan melarutkan 0,8 mL HCl pekat dalam 250 mL aquadest. Ditimbang 31,2 mg TPTZ kemudian dilarutkan dengan HCl 40 mM dalam labu 50 mL dan dicukupkan sampai tanda batas.

3) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM

Ditimbang 270 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam labu 50 mL dan dicukupkan dengan aquadest sampai tanda.

4) Reagent FRAP

Dibuat dengan cara mencampurkan buffer asetat, TPTZ dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan 10:1:1.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{Maks})

Pengujian dilakukan dengan mencampur 3 mL reagen FRAP dan 1 mL aquadest dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 590 nm.

c. Pembuatan Kurva Baku Trolox[®]

Trolox[®] ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox[®] 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 12 ppm dipipet 1,2 mL, 14 ppm dipipet 1,4 mL, 16 ppm dipipet 1,6 mL, 18 ppm dipipet 1,8 mL dan 20 ppm dipipet 2 mL. Dipipet 3 mL dari reagen FRAP ke dalam vial kemudian ditambahkan 1 mL trolox dari masing-masing. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 590 nm.

d. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan

konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentuukur 5 mL., dibuat larutan dalam vial dengan memipet 3 mL reagen FRAP ditambahkan 1 mL sampel (500 ppm). Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 590 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi..

F. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini bersifat deskriptif, dimana hasil pengukuran baku kuersetin diplotkan antara kadar dan absorbannya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear :

$$y = bx + a$$

Dimana :

y = Absorbansi

x = Konsentrasi (C) mg/L

b = Slop (kemiringan)

a = Intersep

Hasil uji yang diperoleh dari rumus perhitungan kadar dibawah dapat dinyatakan sebagai mg/g ekuivalen kuersetin.

$$\text{Total flavonoid} = \frac{V_{\text{contoh}} (L) \times \text{Konsentrasi awal (x)} \times FP}{\text{Berat Ekstrak}}$$

Kapasitas Antioksidan

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times Fp}{\text{Berat sampel (g)}}$$

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Sampel	Berat sampel (g)	Volume pelarut (L)	Berat Ekstrak (g)	% Rendamen
Kulit Batang Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L)	650	8	7,3689	1,1

2. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Tabel 2. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Replikasi	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg QE/g ekstrak)
I	0,01004	0,482	21,73
II	0,01001	0,431	19,48
III	0,01005	0,429	19,31
Rata-Rata			20,17

3. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

Tabel 3. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

Replikasi	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi	Kapasitas Antioksidan (mg Tr/g ekstrak)
I	0,0106	0,542	19,41
II	0,0102	0,599	22,504
III	0,0107	0,588	21,02
Rata-Rata			20,978

4. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC

Tabel 4. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC

Replikasi	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi	Kapasitas Antioksidan (mg Tr/g ekstrak)
I	0,05002	0,380	5,01
II	0,05001	0,324	4,26
III	0,05006	0,395	5,206
Rata-Rata			4,82

5. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Tabel 5. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Replikasi	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi	Kapasita Antioksidan (mg Tr/g ekstrak)
I	0,05002	0,632	2,45
II	0,05001	0,627	2,43
III	0,05006	0,686	2,6
Rata-Rata			2,49

B. Pembahasan

Salah satu kandungan kimia kulit batang kelor adalah flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, dan beberapa minuman yang memiliki beragam manfaat biokimia dan efek antioksidan dan antihipertensi. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, bunga, buah dan biji. Flavonoid terdiri dari beberapa golongan utama antara lain antosianin, flavanol dan flavon yang tersebar luas dalam tumbuhan. Sedangkan khalkon, auron, flavonol, dihidrokhalkon, dan isoflavon penyebarannya hanya terbatas pada golongan tertentu saja (Malik, 2014: 1).

Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit karena radikal bebas sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, enzim-enzim, lemak, selaput sel, mitokondria, DNA serta komponen jaringan lainnya yang dampaknya mulai dari kerusakan jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif hingga kanker.

Pada penelitian ini, peneliti sudah meneliti tentang kadar total flavonoid kemudian dilanjutkan dengan menentukan kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode DPPH, CUPRAC dan FRAP dengan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis.

Pada penelitian ini, sampel kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) yang telah diambil, dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran ataupun serangga yang menempel karena dapat mengganggu proses dan hasil ekstraksi. Kemudian sampel disortasi basah dan dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering disortasi kering kemudian dipotong kecil-kecil dan

diserbukkan. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari cahaya matahari.

Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, refluks, soxhletasi, infusa, dekok, destilasi (Hanani, 2015: 11).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi, karena lebih sederhana, mudah dan tanpa pemanasan. Karena jika menggunakan pemanasan dapat membuat kadar flavonoid berkurang. Maserasi menggunakan etanol 96% dilakukan selama 24 jam kemudian dimaserasi lagi dengan pelarut yang sama secara berulang kali hingga bening, untuk menarik senyawa aktif agar diperoleh kadar secara keseluruhan (Depkes, 2008).

Adapun hasil rendamen dari ekstrak etanol kulit batang kelor yaitu 7,3689 gram dengan % rendamen sebanyak 1,1 %. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel digunakan kuarsetin sebagai larutan standar. Langkah awal yang perlu dilakukan adalah menentukan panjang gelombang maksimum dengan pengukuran larutan standar kuersetin 20 ppm pada panjang gelombang 400-450 nm dan pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum 435 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L). Alasan menggunakan panjang gelombang maksimum yaitu karena pada panjang gelombang maksimum, kepekaan juga maksimum sehingga perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Selain itu disekitar panjang

gelombang maksimum bentuk kuvet absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum *Lambert Beer* akan terpenuhi (Rohman & Gholib, 2007:231).

Pada pengukuran kadar flavonoid total digunakan Larutan standar kuarsetin dengan variasi konsentrasi 10 ppm dipipet 0,1 mL, 15 ppm dipipet 0,15 mL, 20 ppm dipipet 0,2 mL, 25 ppm dipipet 0,25 mL, 30 ppm dipipet 0,3 mL dan 35 ppm dipipet 0,35 mL. Dari beberapa variasi konsentrasi tersebut masing-masing dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL aluminium klorida dan 1 mL kalium asetat, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Kemudian diukur pada panjang gelombang 435 nm. Dari pengukuran tersebut, diperoleh nilai absorbansi larutan standar kuarsetin yaitu $y = 0,022x + 0,002$ dengan koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0,994 dan koefisien korelasi (r) adalah 0,997.

Hal yang sama juga dilakukan untuk pengukuran absorbansi sampel ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera L*) yang dibuat sebanyak 3 replikasi untuk keperluan akurasi data. Dimana larutan sampel ditambahkan 1 mL aluminium klorida ($AlCl_3$) yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Kemudian ditambahkan 1 mL kalium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera L*) sebesar 20,17 mg QE/g Ekstrak (Chang *et al.*, 2002).

Ekstrak etanol yang diperoleh dilakukan pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH, CUPRAC dan FRAP yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari masing-masing metode.

Pada penelitian ini digunakan antioksidan sintetik sebagai kontrol positif yaitu troloks. Secara struktur troloks serupa dengan α -tokoferol kecuali penggantian rantai samping hidrokarbon dengan gugus COOH. Troloks berupa bubuk berwarna putih sampai kuning dan memiliki titik leleh 189-195 °C. Senyawa ini stabil selama 2 bulan pada suhu 2-8 °C dan mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan α -tokoferol, BHA, serta BHT (Belitz 1999). Troloks sering dipergunakan sebagai standar dalam pengukuran antioksidan.

Pada pengujian kapasitas antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode serapan 1,1-difenil-1-pikrihidrazil, yang sederhana, cepat, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Selain itu, metode ini akurat dan praktis.

Metode DPPH ini memberikan serapan kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampur kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya.

Senyawa aktif di dalam ekstrak yang memiliki kemampuan penangkal radikal bebas umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H) tersebut di tangkap oleh radikal DPPH (Hidrazil) untuk berubah menjadi bentuk netralnya. Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen, dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal bebas sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan.

Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH ditandai dengan perubahan warna setelah inkubasi. Proses inkubasi pada penelitian ini dilakukan

selama 30 menit, tujuannya untuk mempercepat reaksi antara radikal DPPH dengan sampel yang bertindak sebagai antioksidan. Perubahan warna ini terjadi pada ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dan trolox sebagai pembanding dimana ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) mengalami perubahan warna yang tidak signifikan setelah diinkubasi. Perubahan tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) hanya mendonorkan atom H-nya dalam jumlah yang sedikit. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan kemampuan antioksidan untuk menangkal radikal bebas.

Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu untuk replikasi 1 hasil Yang didapatkan yaitu 19,41 mg Tr/g Ekstrak, replikasi 2 sebesar 22,504 mg Tr/g Ekstrak dan untuk replikasi 3 yaitu 21,02 mg Tr/g Ekstrak sehingga hasil rata-rata untuk kapasitas antioksidan metode DPPH yaitu 20,978 mg Tr/g Ekstrak. Hasil menunjukkan bahwa semakin besar kapasitas maka semakin besar pula kemampuan sampel sebagai antioksidan.

Pada pengujian antioksidan metode CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) kompleks bisneokuproin- tembaga(II) akan mengoksidasi senyawaan antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bis-neokuproin-tembaga(I). Secara visual hal ini dapat dilihat dari perubahan warna kompleks larutan dari biru toska menjadi kuning. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, yaitu sebesar 0,17 V

Reagen kromogenik redoks yang digunakan dalam uji CUPRAC ini adalah bis(neokuoproin) tembaga(II) khelat. Reagen ini bekerja pada pH 7, dan absorbansi pembentukan Cu(I)-khelat sebagai hasil reaksi redoks dengan mereduksi polifenol

diukur pada 450 nm. Warna berasal dari terbentuknya khelat Cu(I)-Nc (Apak, *et al.* 2007).

Pada metode CUPRAC nilai kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol Kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) untuk, replikasi 1, replikasi 2 dan replikasi 3 masing-masing hasilnya yaitu 5,01 mg Tr/g Ekstrak, 4,26 mg Tr/g Ekstrak, 5,206 mg Tr/g Ekstrak dan hasil kapasitas antioksidan untuk metode CUPRAC yaitu 4,82 mg Tr/g Ekstrak.

Pada pengujian metode ketiga yaitu metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi(III)-tripiridil-triazin menjadi besi(II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Pada pengujian antioksidan metode ini, menggunakan Fe(TPTZ)_2^{3+} kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru Fe(TPTZ)_2^{3+} akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi Fe(TPTZ)_2^{2+} yang berwarna kuning dengan reaksi sebagai berikut:

Pada metode ini didapat nilai kapasitas antioksidan yaitu 2,494 mgTr/g Ekstrak. Yang mana diperoleh dari replikasi 1 sebesar 2,45 mg Tr/g Ekstrak, replikasi 2 sebesar 2,43 mg Tr/g Ekstrak dan replikasi 3 yaitu 2,602 mg Tr/g Ekstrak.

Dari hasil penelitian dari ketiga metode ini, pada metode FRAP ini menunjukkan nilai kapasitas antioksidan yang kecil dibandingkan dengan metode CUPRAC dan DPPH. Menurut Ou *et al.* (2002), pengukuran antioksidan dengan metode FRAP dapat berjalan akurat apabila dilakukan pada senyawaan antioksidan yang bisa mereduksi Fe(III)TPTZ pada kondisi reaksi secara termodinamika dan memiliki laju reaksi yang cukup cepat. Selain itu, antioksidan yang teroksidasi dan semua produk reaksi sekundernya harus tidak memiliki serapan maksimum pada absorbansi 598 nm atau serapan Fe(II)TPTZ . Pada kenyataannya kondisi ini sulit

ditemui dan tidak realistis (Apak *et al.* 2007), Menurut Ou *et al.* (2002), hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu karena nilai potensial reduksi standar dari Fe(III)/Fe(II) adalah 0.77 V sehingga senyawa apapun dengan nilai potensial reduksi dibawah 0.77 V dapat mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II) dan memberikan kontribusi pada pengukuran antioksidan dengan metode FRAP. Selain itu, tidak semua antioksidan dapat mereduksi Fe(III) dengan waktu yang sesuai dengan waktu inkubasi. Menurut Pulido *et al.* (2000), absorbans dari beberapa senyawaan fenol seperti asam kafeat, asam ferulat, kuersetin, dan tanin tidak stabil dalam pengukuran FRAP karena waktu inkubasi yang dibutuhkan lebih lama dibandingkan dengan waktu inkubasi FRAP. Penyebab lainnya, senyawaan pengganggu dapat memiliki serapan absorbans maksimum pada daerah pengukuran FRAP. Hal ini berlaku untuk contoh bahan alam yang memiliki banyak senyawa pengganggu sehingga FRAP tidak cocok untuk diaplikasikan pada contoh biologis. Al-Quran banyak menyebutkan potensi tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam Q.S.Al-An'am/6:99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Terjemahnya :

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya.

Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Kementrian Agama RI, 2012).

Ayat di atas mengingatkan kita pada tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah yang telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang penuh dengan manfaat, keunikan dan kegunaan untuk kesejahteraan umat manusia (Shihab,2009). ‘Aidh Al-Qarni (2008) menjelaskan bahwa Allah swt semata yang menciptakan kebun-kebun yang luas dan taman-taman yang menghijau yang terdiri dari berbagai jenis pohon. Diantaranya ada yang tumbuh tinggi menjulang seperti kurma, tanaman pertanian, zaitun, dan delima, namun diantaranya ada pula yang tidak tumbuh tinggi. Allah menciptakan segala sesuatu mempunyai tujuan, adanya tumbuhan yang berwarna mengisyaratkan adanya perbedaan dari setiap tujuan penciptaan-Nya.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 96% kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) sebesar 20,17 mg QE/gEkstrak.
2. Ekstrak etanol 96% kulit batang kelor (kelor (*Moringa oleifera* L) pada metode DPPH memiliki kapasitas antioksidan sebesar 20,978 mg Tr/gEkstrak, pada metode CUPRAC sebesar 4,82 mg Tr/gEkstrak dan untuk metode FRAP besarnya kapasitas antioksidan yang didapatkan yaitu 2,49 mg Tr/gEkstrak.

B. Implikasi Penelitian

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penentuan kadar fenolik dari ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dan melanjutkan uji kapasitas antioksidan dengan metode lain.

KEPUSTAKAAN

Al-qur'an dan Terjemahannya.

Aminah, Nurhayati Tomayahu, Zainal Abidin. 2016. *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (Persea americana Mill) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Makassar: Jurnal Fitofarmaka.

Aminah, Syarifa, Tezar Ramadan, Mufliani Yanis. 2015. *Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (Moringa oleifera L)*. Jakarta: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.

Ardhie, A.M. 2011. *Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan*. Jakarta: Medicinus.

Apak, R, Guchu, Demirata B. 2007. *Comparative Evaluation OF Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied To Phenolic Compounds With The CUPRAC Assays*. Molecules.

Badarinath, A.V, Rao, K.M, Cetty, C.M.S, Ramkanath, Rajan Ganam Prakash. 2010. *A Review On Invitro Antioxidant Methods: Comparison, Corelation and Consideration*. London: International Journal Of Phartech Research.

Direktorat Obat Asli Indonesia. 2008. *Taksonnemi “ Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Citereup*. Jakarta: BPOM RI.

Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.

Gandjar, I.G, Roman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar

Gandjar, I.G, Roman. 2013. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar

Gupta, V.K, Sherma, S. 2006. *Plants Of Natural Antioxidant, Natural Product Radiance*. Departement of Pharmaceutical Science, Jodphur National University.

Hanani, Endang. 2014. *Analisis Fitokimia..* Yogyakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC

Harboene, J.B.1987. *Metode Fitokimia. Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan kedua*. Bandung : ITB

Haris,M. 2011. *Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (Gynura Pseudochina [Lour] CD) dengan Spektrofotometri UV-Visible*. Skripsi. Padang :Universitas Andalas.

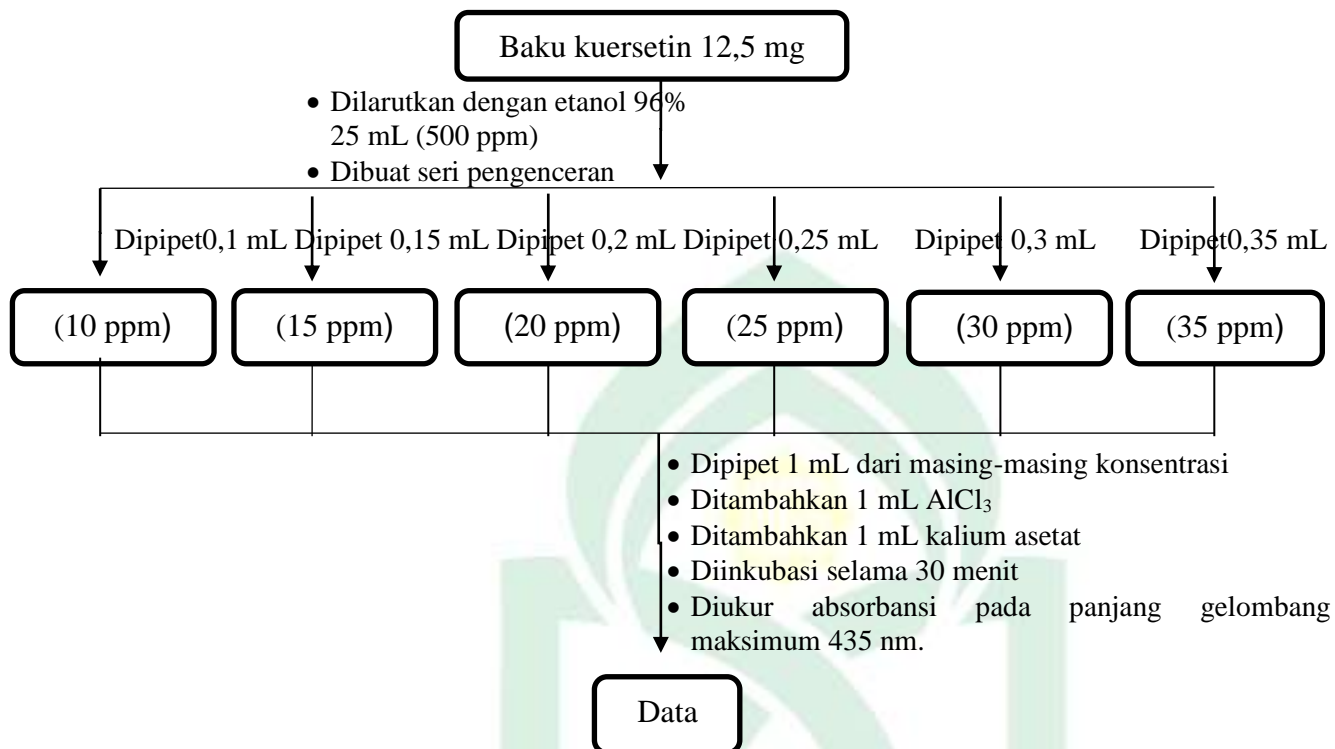
Heinrich, M, Barnes, Gibbons, Williamson. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran Udayana.

- Hijaz, M.N. 2009. *Uji Aktivitas Antioksidan Kraginana dalam Alga Merah Jenis Echemma spinosum dan Gracilia verrucosa*. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
- Hukmah, S. 2008. *Aktivitas Antioksidan Katekin dari Teh Hijau (Camelia sinensis O.K varassamica) Hasil Ekstraksi dengan Variasi Pelarut dan Suhu*. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
- Ikalinus, Robertino, Sri Kayati, Ni Luh Setiasih. 2015. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (Moringa oleifera L)*. Bali: Indonesia Medicinus Veterinus Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- Jonni, M.S, Sitorus M, Kathana, Nelly. 2008. *Cegah Mal Nutrisi dengan Kelor*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press
- Kurniasih. 2010. *Manfaat Daun Kelor*. Jakarta
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoid. Fenil Propanoda dan Alkaloida*. Medan: USU Repository.
- Luciana, L. Mensor, Fabio,S.Menezes. 2001. *Screening of Brazillian Plant Extract For Antioxidant Activity By The Use Of DPPH Free Radical Method*. Brazil: Departamento de Produtos Naturales.
- Mahmood, K.T, tahira Mugal. 2011. *Moringa oleifera: A Natural Gift- A Review*. India: Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research
- Malik, Abd, Wahyulianingsih, Selpida Handayani. 2012. *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum L)*. Makassar: Universitas Muslim Makassar.
- Pourmurad, F, Hoseinimehr, S,J Shahabimajd, N. 2006. *Antioxidant Activity Phenol and Flavonoid Content Of Some Selected Iranian Medical Plant*. Afrika: African Journal of Biotechnology
- Prakash, Rigelhof, F, Miller. 2011. *Antioxidant Activity: Medallion Laboratories Analytical Progress*.
- Redha, A. 2010. *Flavonoid:Struktur, sifat Antioxidant dan Peranannya dalam Sistem biologis*. Jakarta: Jurnal Belian Vol.9. No.2
- Septianingsih. 2008. *Efek Penyembuhan Luka Bakar Etanol 70% Daun Pepaya dalam Sediaan Gel pada Kulit Punggung Kelinci*. Skripsi. Surakarta.
- Shihab, M.Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah, Pesan Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Silalahi, Jansen. 2006. *Makanan Fungsional* . Yogyakarta: Kanisius

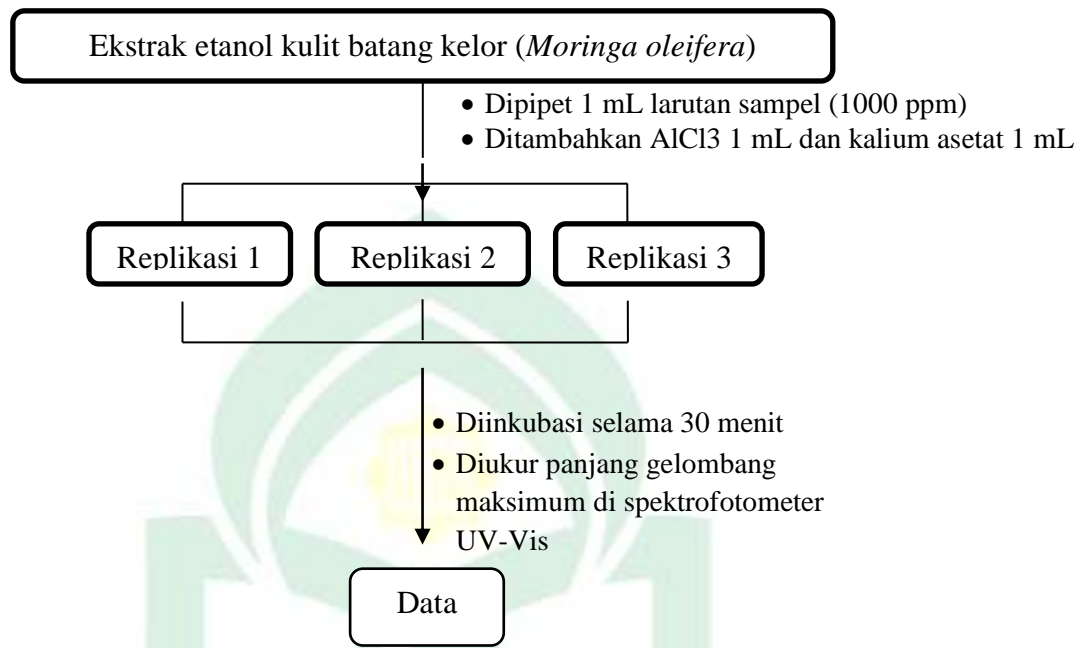
- Sing, Y. 2007. *Determination Of Syntethic Phenolic Antioxidant In Food Item Using HPLC and Total Antioxidant Using Fia Approaches*. Malaysia: Universitas Sains Malaysia.
- Stankovic, M.S. 2011. *Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of Marrubium Paregrinum L. Extract*. Kragujevac: J.Sci
- Szollosi, R. 2002. *Total Antioxidant Power in Some Species of Labiatae (Adaptation of FRAP Method)* Hungarian Congress On Plant Physiology.
- Valko, M, Leibfritz D, Moncol, J. Cronin. 2007. *Free Radicals and Antioxidant in Normal Physiology Function and Human Disease*. The International Journal Of Biochemistry and Cell Biology.
- Voight, Rudolf. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gajah Mada University.
- Widyastuti, Niken. 2010. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH and FRAP serta Korelasinya Dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.
- Wijayanti, Margareta Novi. 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Buni (Antidesma Buntus L) dengan Metode DPPH dan Metode Folin-Ciocalteu*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Winarsih, Hery. 2007. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yu, L, Scott, H., Jonathan, P., Mary. 2008. *Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extract*

Lampiran 1. Skema kerja ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*)

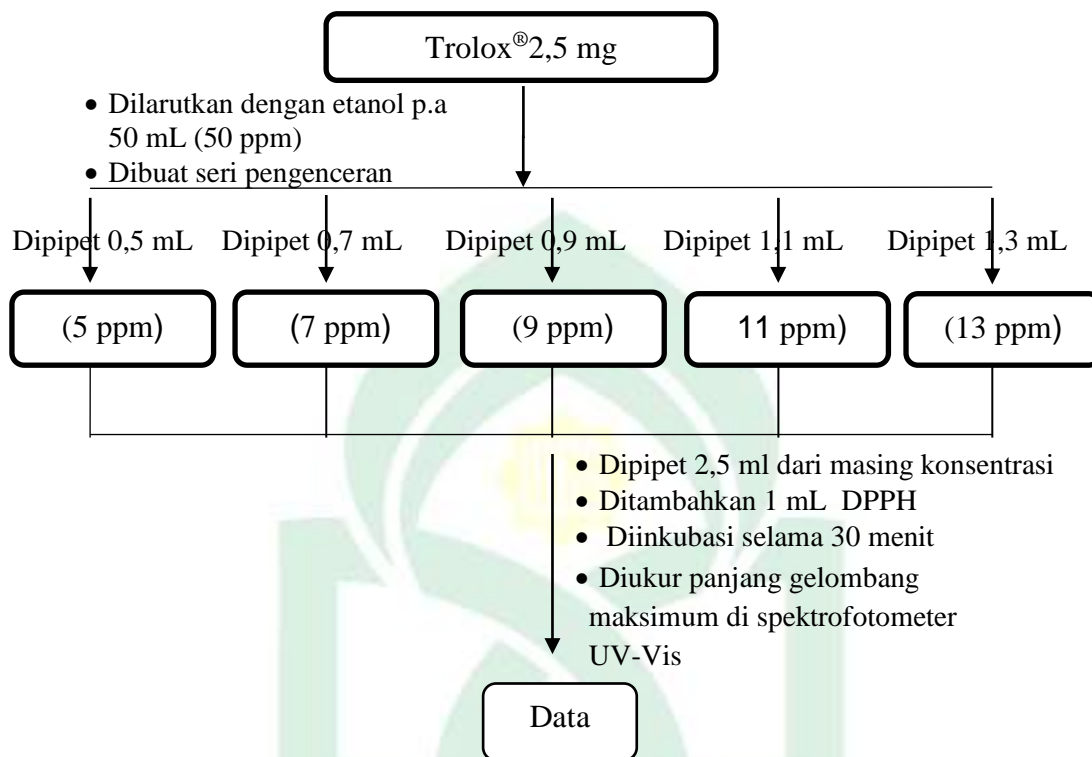
Lampiran 2. Skema Kerja pembuatan larutan standar kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis



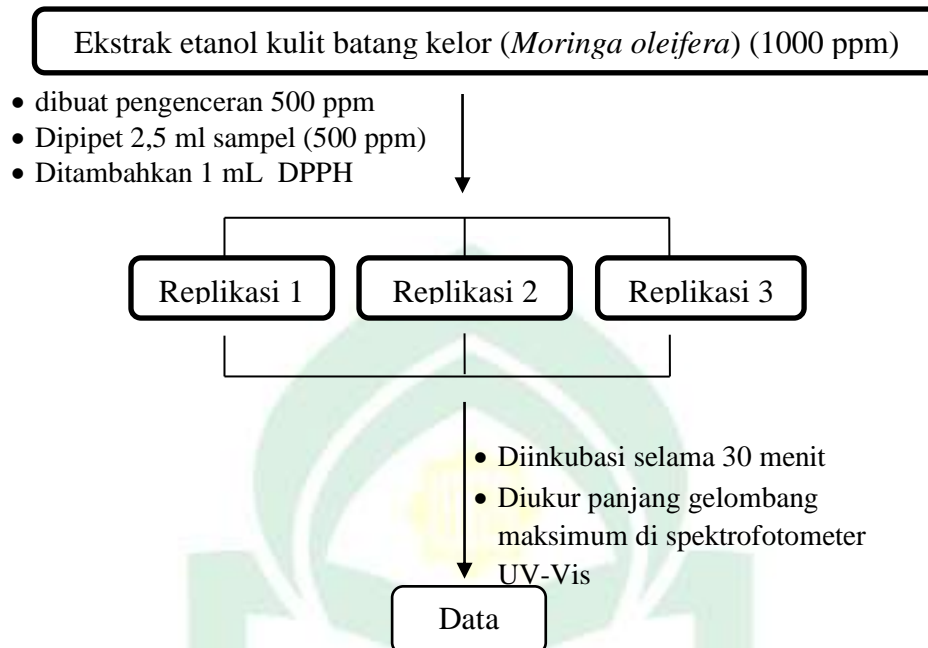
Lampiran 3. Skema Kerja penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*)



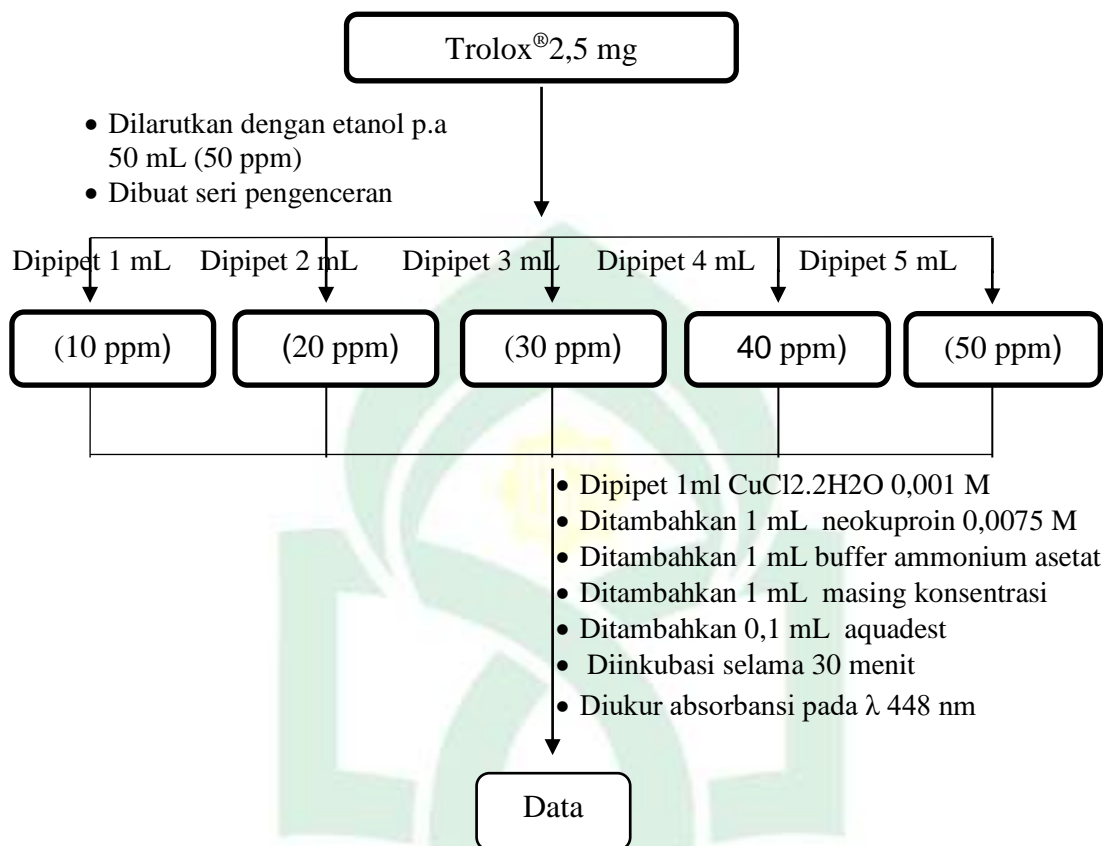
Lampiran 4. Skema Kerja pembuatan Kurva Baku Trolox® menggunakan spektrofotometri UV-Vis Metode DPPH



Lampiran 5. Skema Kerja Pengukuran Kapasitas Antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) Metode DPPH



Lampiran 6. Skema Kerja pembuatan Kurva Baku Trolox[®] menggunakan spektrofotometri UV-Vis Metode CUPRAC



Lampiran 7. Skema Kerja Pengukuran Kapasitas Antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) Metode CUPRAC

Ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) (1000 ppm)

- dibuat pengenceran 500 ppm
- Dipipet 1ml $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,001 M
- Ditambahkan 1 mL neokuproin 0,0075 M
- Ditambahkan 1 mL buffer ammonium asetat
- Ditambahkan 1 mL sampel 500 ppm
- Ditambahkan 0,1 mL aquadest

Replikasi 1

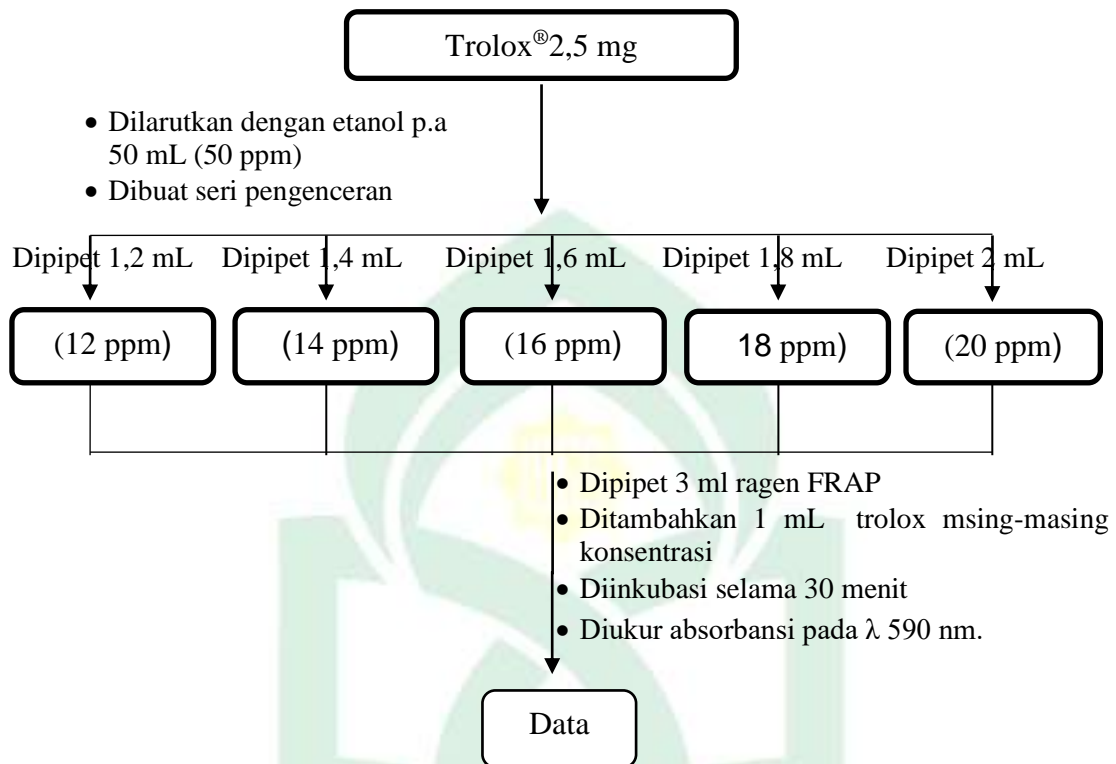
Replikasi 2

Replikasi 3

- Diinkubasi selama 30 menit
- Diukur absorbansi pada λ 448 nm.

Data

Lampiran 8. Skema Kerja pembuatan Kurva Baku Trolox® menggunakan spektrofotometri UV-Vis Metode FRAP



Lampiran 9. Skema Kerja Pengukuran Kapasitas Antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) Metode FRAP

Ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) (1000 ppm)

- dibuat pengenceran 500 ppm
- Dipipet 3 ml reagen FRAP
- Ditambahkan 1 mL sampel (500 ppm)

Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

- Diinkubasi selama 30 menit
- Diukur absorbansi pada λ 590 nm.

Data

LAMPIRAN 10. Perhitungan

A. Penyiapan Larutan

1. Pereaksi Kalium Asetat 120 mM

$$\begin{aligned}
 g &= M \times \text{BM} \times V \text{ (L)} \\
 &= 120 \text{ mM} \times 98,1428 \times 25 \text{ ml} \\
 &= 120 \text{ mM} \times 98,1428 \times 0,025 \text{ L} \\
 &= 294,4284 \text{ mg} \\
 &= 0,294 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Dilarutkan dengan aquadest pada labu tentu ukur 25 ml.

2. Pereaksi Aluminium Chlorida 2%

AlCl_3 2% dibuat dengan melarutkan 2 gram AlCl_3 dengan aquadest hingga volume 100 ml.

3. Penyiapan Larutan DPPH

$$\begin{aligned}
 0,343 \text{ mM} &= \frac{3,43 \times 10^{-4}}{\text{L}} \text{ mol} \\
 &= \frac{3,43 \times 10^{-7}}{\text{L}} \text{ mol} \\
 3,43 \times 10^{-7} \text{ mol} &= \frac{g}{\text{BM}} \\
 3,43 \times 10^{-7} \text{ mol} &= \frac{g}{394,32 \text{ g/mol}} \\
 \text{Massa} &= 3,43 \times 10^{-7} \text{ mol} (394,32 \text{ g/mol}) \\
 \text{Massa/ml} &= 0,0001352 \text{ gram} \\
 \text{Massa/100 ml} &= 0,01352 \text{ gram} \\
 &= 13,52 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

4. $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times 10$$

$$\text{g} = \frac{0,01 \times 171}{10}$$

$$\text{g} = 0,171 \text{ gram}$$

$$\text{g} = 171 \text{ mg}$$

Dilarutkan dengan aquadest dan dicukupkan hingga tanda batas dalam labu tentuukur 100 ml.

5. Neocuproin etanolik 0,0075 M

$$0,0075 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$0,0075 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$0,0075 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times 10$$

$$\text{g} = \frac{0,0075 \text{ M} \times 208,26}{10}$$

$$\text{g} = 0,156 \text{ gram}$$

$$\text{g} = 156 \text{ mg}$$

Dilarutkan dengan etanol p.a pada labu 100 ml dan dicukupkan sampai batas.

6. Buffer Amonium Asetat 1 M pH 7

$$1 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{g}{M_r} \times 10$$

$$g = \frac{1 \text{ M} \times 77,08}{10}$$

$$g = 0,156 \text{ gram} = 156 \text{ mg}$$

Dilarutkan dengan aquadest pada labu 100 ml dan dicukupkan sampai tanda.

7. $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 20 mM

$$0,02 \text{ M} = \frac{g}{M_r} \times \frac{1000}{ml}$$

$$g = \frac{g}{270,35} \times \frac{1000}{50 \text{ ml}}$$

$$g = \frac{270,35 \times 0,02}{20}$$

$$g = 0,270 \text{ gram} = 270 \text{ mg}$$

Dilarutkan dalam labu 50 ml dengan aquadest dan dicukupkan sampai batas.

8. HCl 40 Mm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 0,04 \text{ M} \times 250 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0,04 \text{ M} \times 250 \text{ ml}}{12,06}$$

$$V_1 = 0,829 \text{ ml}$$

Dibuat dengan melarutkan 0,8 ml HCl pekat dalam aquadest 250 ml.

9. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 10 mM

$$0,01 \text{ M} = \frac{g}{M_r} \times \frac{1000}{ml}$$

$$g = \frac{g}{312,34} \times \frac{1000}{10 \text{ ml}}$$

$$g = \frac{312,34 \times 0,01}{100}$$

$$g = 0,0312 \text{ gram} = 31,2 \text{ mg}$$

Dilarutkan dalam HCl 40 mM pada labu tentuukur 10 ml.

10. Buffer Asetat pH 3,6(Halvorsen, 2002: 463)

Dibuat dari 0,775 gram natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ditambahkan dengan 4 ml asam asetat P, kemudian dilarutkan dengan aquadest hingga tepat 250 ml dalam labu tentu ukur.

11. Reagen FRAP(Halvorsen, 2002: 463)

Dibuat dengan cara mencampurkan buffer asetat, TPTZ, dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan 10:1:1.

B. Perhitungan Rendamen Ekstrak

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendamen} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak (g)}}{\text{Bobot Rendamen (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{7,3689 \text{ gram}}{650 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 1,13 \% \end{aligned}$$

C. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

$$\text{Bobot Ekstrak} = 0,01004 \text{ g}, 0,01001 \text{ g}, 0,01005 \text{ g}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = 1$$

$$\text{Volume contoh} = 10 \text{ ml}$$

$$Y = bx + a$$

$$y = 0,022x + 0,002$$

$$x = \text{Konsentrasi (ppm = mg/l)}$$

$$a = \text{kandungan flavonoid awal (X)}$$

Persamaan linear

$$y = bx + a$$

$$y = 0,022x + 0,002$$

$$r^2 = 0,994$$

$$x = \frac{y-a}{b}$$

1. Kandungan Flavonoid Awal (X)

Replikasi 1

$$y = 0,022x + 0,002$$

$$0,482 = 0,022x + 0,002$$

$$x = \frac{0,482 - 0,002}{0,022}$$

$$x = 21,818 \text{ mg/L}$$

Replikasi 2

$$y = 0,022x + 0,002$$

$$0,431 = 0,022x + 0,002$$

$$x = \frac{0,431 - 0,002}{0,022}$$

$$x = 19,5 \text{ mg/L}$$

Replikasi 3

$$y = 0,022x + 0,002$$

$$0,429 = 0,022x + 0,002$$

$$x = \frac{0,429 - 0,002}{0,022}$$

$$x = 19,409 \text{ mg/L}$$

2. Kandungan Flavonoid Total

Replikasi I

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Flavonoid} &= \frac{V_{\text{contoh}} \times [X] \times fp}{\text{BeratSampel}} \\
 &= \frac{0,01 \text{ L} \times \left(21,818 \frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 1}{0,01004 \text{ g}} \\
 &= 21,73 \text{ mg QE/g Ekstrak}
 \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Flavonoid} &= \frac{V_{\text{contoh}} \times [X] \times fp}{\text{BeratSampel}} \\
 &= \frac{0,01 \text{ L} \times \left(19,5 \frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 1}{0,01001 \text{ g}} \\
 &= 19,48 \text{ mg QE/g Ekstrak}
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Flavonoid} &= \frac{V_{\text{contoh}} \times [X] \times fp}{\text{BeratSampel}} \\
 &= \frac{0,01 \text{ L} \times \left(19,409 \frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times 1}{0,01005 \text{ g}} \\
 &= 19,31 \text{ mg QE/g Ekstrak}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar flavonoid total} &= \frac{\text{Rep I} + \text{Rep 2} + \text{Rep 3}}{3} \\
 &= \frac{21,73 \text{ mgQE/gEkstrak} + 19,48 \text{ mgQE/gEkstrak} + 19,31 \text{ mgQE/gEkstrak}}{3} \\
 &= 20,17 \text{ mgQE/gEkstrak}
 \end{aligned}$$

Jadi kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*)

adalah **20,17 mgQE/gEkstrak**

D. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}}$$

$$\text{Bobot Ekstrak} = 0,0106 \text{ g}, 0,0102 \text{ g}, 0,0107 \text{ g}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = 2$$

$$\text{Volume sampel} = 2,5 \text{ ml}$$

Replikasi 1

$$y = 0,012x + 0,048$$

$$0,542 = 0,012x - 0,048$$

$$x = \frac{0,542 - 0,048}{0,012}$$

$$x = \frac{0,494}{0,012}$$

$$x = 41,16 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned} \text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{2,5 \text{ ml} \times [41,16 \mu\text{M Tr}] \times 2 \times 10^{-3}}{0,0106 \text{ gram}} \\ &= \frac{0,2058}{0,0106} \\ &= 19,41 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$y = 0,012x + 0,048$$

$$0,599 = 0,012x - 0,048$$

$$x = \frac{0,599 - 0,048}{0,012}$$

$$x = \frac{0,551}{0,012}$$

$$x = 45,91 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned}\text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{2,5 \text{ ml} \times [45,91 \mu\text{M Tr}] \times 2 \times 10^{-3}}{0,0102 \text{ gram}} \\ &= \frac{0,22955}{0,0102} \\ &= 22,504 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}\end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}y &= 0,012x + 0,048 \\ 0,588 &= 0,012x + 0,048 \\ x &= \frac{0,588 - 0,048}{0,012} \\ x &= \frac{0,540}{0,012} \\ x &= 45 \mu\text{M Tr}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{2,5 \text{ ml} \times [45 \mu\text{M Tr}] \times 2 \times 10^{-3}}{0,0107 \text{ gram}} \\ &= \frac{0,225}{0,0107} \\ &= 21,02 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}\end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kapasitas antioksidan} = \frac{\text{Rep I} + \text{Rep 2} + \text{Rep 3}}{3}$$

$$\begin{aligned}\text{TAC} &= \frac{19,41 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 22,504 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 21,02 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}}{3} \\ &= \frac{62,934}{3}\end{aligned}$$

$$= 20,978 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$$

Jadi kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode DPPH adalah **20,978 $\mu\text{mol Tr/g}$ Ekstrak**

E. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}}$$

$$\text{Bobot Ekstrak} = 0,05002 \text{ g}, 0,05001 \text{ g}, 0,05006 \text{ g}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = 2$$

$$\text{Volume contoh} = 1 \text{ ml}$$

Replikasi 1

$$y = 0,003x + 0,004$$

$$0,380 = 0,0037 - 0,0041$$

$$x = \frac{0,380 - 0,004}{0,003}$$

$$x = \frac{0,376}{0,003}$$

$$x = 125,33 \mu\text{M Tr}$$

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}}$$

$$= \frac{1 \text{ ml} \times [125,33 \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,05002 \text{ g}}$$

$$= \frac{0,25066}{0,05002}$$

$$= 5,01 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$$

Replikasi 2

$$y = 0,003x + 0,004$$

$$0,324 = 0,003 - 0,004$$

$$x = \frac{0,324 - 0,004}{0,003}$$

$$x = \frac{0,320}{0,003}$$

$$x = 106,66 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned} \text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{1 \text{ ml} \times [106,66 \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,0102 \text{ g}} \\ &= \frac{0,21332}{0,05001} \\ &= 4,26 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$y = 0,003x + 0,004$$

$$0,395 = 0,003x - 0,004$$

$$x = \frac{0,395 - 0,004}{0,003}$$

$$x = \frac{0,391}{0,003}$$

$$x = 130,33 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned} \text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{1 \text{ ml} \times [130,33 \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,05006 \text{ g}} \\ &= \frac{0,26066}{0,05006} \\ &= 5,206 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kapasitas antioksidan} = \frac{\text{Rep I} + \text{Rep 2} + \text{Rep 3}}{3}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{5,01 \text{ } \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 4,26 \text{ } \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 5,206 \text{ } \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}}{3} \\
 &= \frac{14,476}{3} \\
 &= 4,82 \text{ } \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}
 \end{aligned}$$

Jadi kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode CUPRAC adalah **4,82 $\mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$**

F. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}}$$

$$\text{Berat Ekstrak} = 0,05002 \text{ g}, 0,05001 \text{ g}, 0,05006 \text{ g}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = 2$$

$$\text{Volume contoh} = 1 \text{ ml}$$

Replikasi 1

$$y = 0,014x - 0,226$$

$$0,632 = 0,014x - 0,226$$

$$x = \frac{0,632 + 0,226}{0,014}$$

$$x = \frac{0,858}{0,014}$$

$$x = 61,28 \text{ } \mu\text{M Tr}$$

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}}$$

$$= \frac{1 \text{ ml} \times [61,28 \text{ } \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,05002 \text{ g}}$$

$$= \frac{0,12256}{0,05002}$$

$$= 2,45 \text{ } \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$$

Replikasi 2

$$y = 0,014x - 0,226$$

$$0,627 = 0,014x - 0,226$$

$$x = \frac{0,627+0,226}{0,014}$$

$$x = \frac{0,853}{0,014}$$

$$x = 60,92 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned} \text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{1 \text{ ml} \times [60,92 \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,05002 \text{ g}} \\ &= \frac{0,12184}{0,05001} \\ &= 2,43 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$y = 0,014x - 0,226$$

$$0,686 = 0,014x - 0,226$$

$$x = \frac{0,686+0,226}{0,014}$$

$$x = \frac{0,912}{0,014}$$

$$x = 65,14 \mu\text{M Tr}$$

$$\begin{aligned} \text{Kapasitas Antioksidan} &= \frac{V_{\text{sampel}} \times [\text{sampel}] \times F_p}{\text{Berat sampel (g)}} \\ &= \frac{1 \text{ ml} \times [65,14 \mu\text{M Tr}] \times (2 \times 10^{-3})}{0,05002 \text{ g}} \\ &= \frac{0,13028}{0,05006} \end{aligned}$$

$$= 2,602 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$$

$$\text{Rata-rata kapasitas antioksidan} = \frac{\text{Rep I} + \text{Rep 2} + \text{Rep 3}}{3}$$

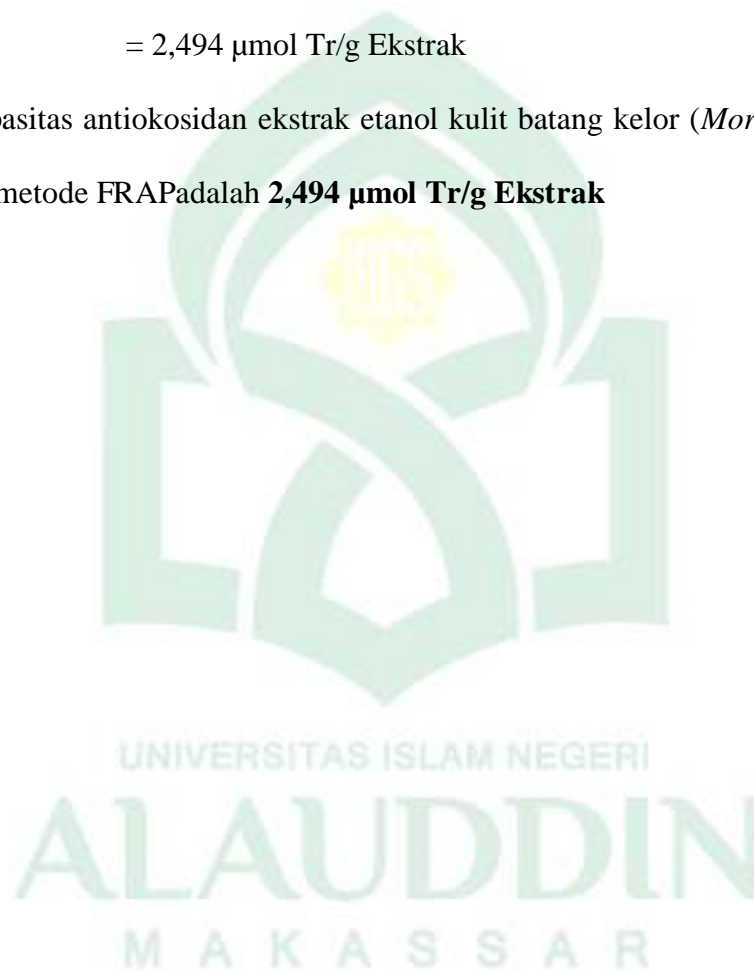
$$\text{TAC} = \frac{2,45 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 2,43 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak} + 2,602 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}}{3}$$

$$= \frac{7,482}{3}$$

$$= 2,494 \mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$$

Jadi kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*)

dengan metode FRAP adalah **2,494 $\mu\text{mol Tr/g Ekstrak}$**



LAMPIRAN 11. GRAFIK

A. Penentuan Kadar Flavoniod

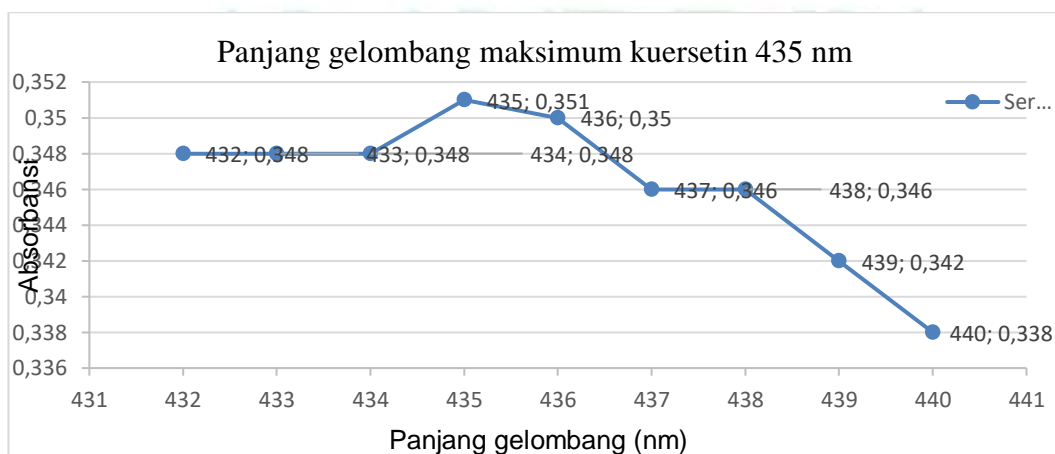
1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal

Tabel 6. Hasil running Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi (nm)	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi (nm)
400	0,227	432	0,348
405	0,257	433	0,348
410	0,280	434	0,348
415	0,309	435	0,351
420	0,329	436	0,350
425	0,346	437	0,346
430	0,354	438	0,346
435	0,355	439	0,342
440	0,344	440	0,338
445	0,319		
450	0,293		

2. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin 435 nm

Grafik 1. Panjang gelombang maksimum kuersetin 435 nm

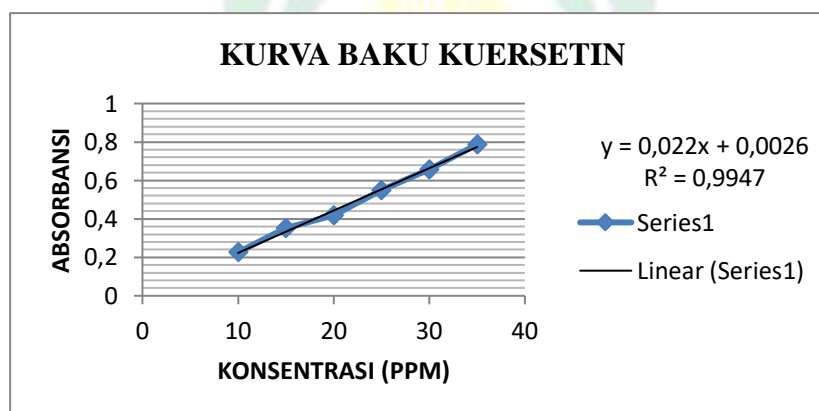


3. Kurva Baku Kuersetin

Tabel 7. Data Absorbansi Kurva Baku Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,226
15	0,351
20	0,419
25	0,55
30	0,658
35	0,787

Grafik 2. Kurva Baku Kuersetin



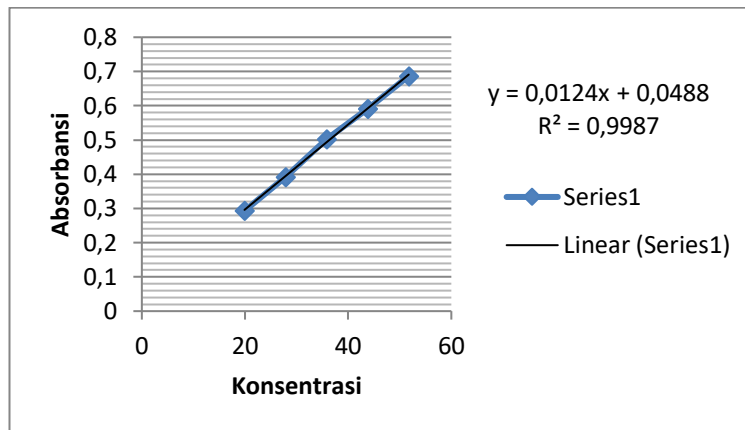
B. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

1. Kurva Baku Trolox® Metode DPPH

Tabel 8. Data Kurva Baku Trolox® Metode DPPH

Konsentrasi (μM)	Absorbansi	A ^{Terkoreksi}
Blanko 0	1,045	0,000
19,9	0,752	0,293
27,86	0,653	0,392
35,82	0,542	0,503
43,78	0,453	0,592
51,74	0,358	0,687

Grafik 3. Kurva Baku Trolox® Metode DPPH

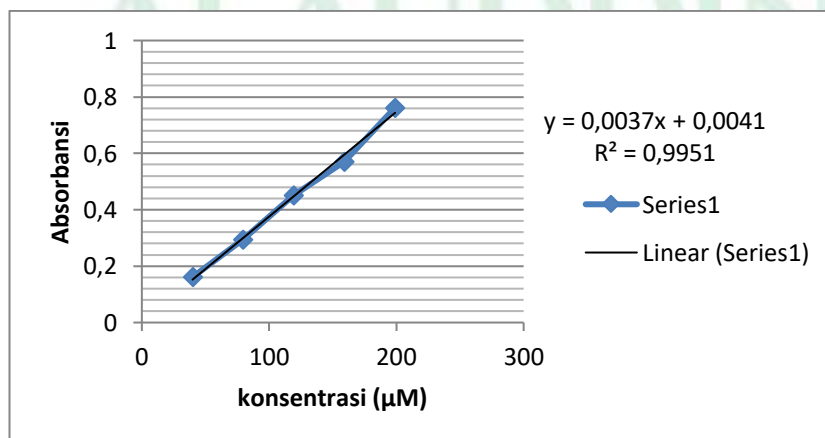


C. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC

Tabel 9. Data Kurva Baku Trolox® Metode CUPRAC

Konsentrasi (μM)	Absorbansi
39,8	0,161
79,6	0,294
119,4	0,451
159,2	0,571
199	0,762

Grafik 4. Kurva Kurva Baku Trolox® Metode CUPRAC

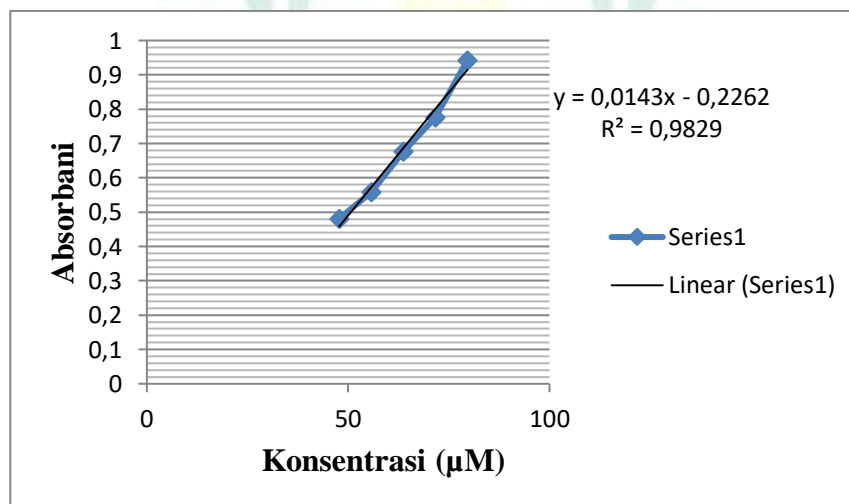


D. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Tabel 9. Data Kurva Baku Trolox® MetodeFRAP

Konsentrasi (μM)	Absorbansi
47,76	0,481
55,72	0,558
63,68	0,676
71,64	0,776
79,6	0,943

Grafik 5. Kurva Kurva Baku Trolox® Metode FRAP



LAMPIRAN GAMBAR



Gambar 7. Pohon Kelor (*Moringa oleifera* L)



Gambar 8. Simplisia Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)



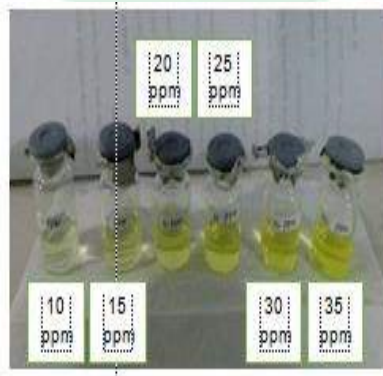
Gambar 9. Proses Maserasi Sampel



Gambar 10. Proses Evaporasi



Gambar 11. Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)



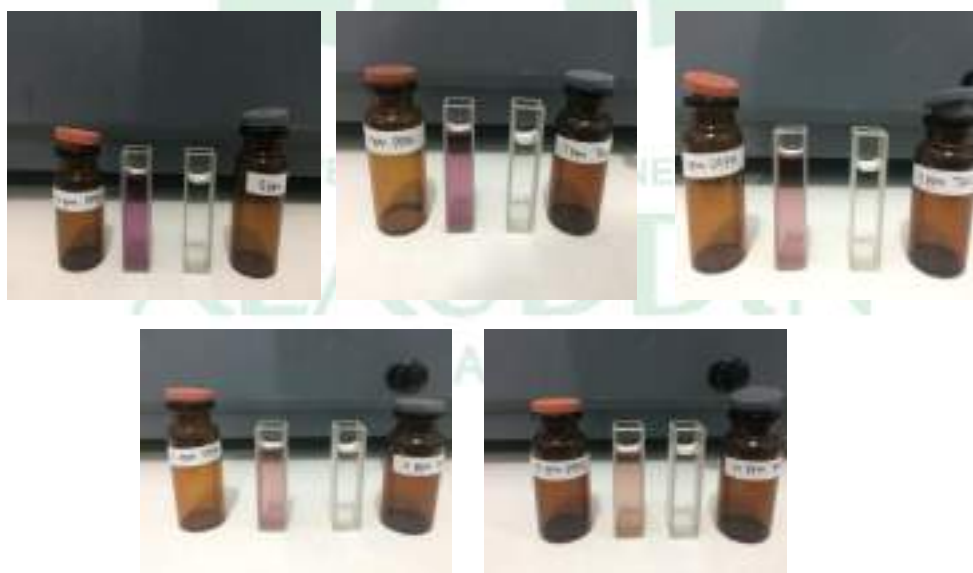
Gambar 12. Deret Konsentrasi Larutan Standar Kuersetin



Gambar 13. Larutan uji sampel Kulit Batang kelor Penetapan Kadar Flavonoid



Gambar 14. Larutan Stok Trolox®



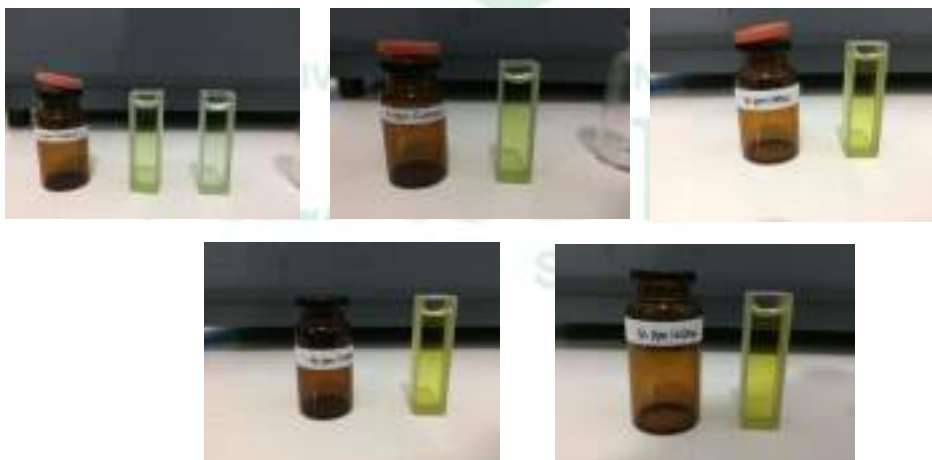
Gambar 15. Deret Konsentrasi Trolox® untuk Metode DPPH



Gambar 16 . Larutan Stok Sampel (1000 ppm)



Gambar 17. Larutan uji Metode DPPH (Konsentrasi sampel 500 ppm)



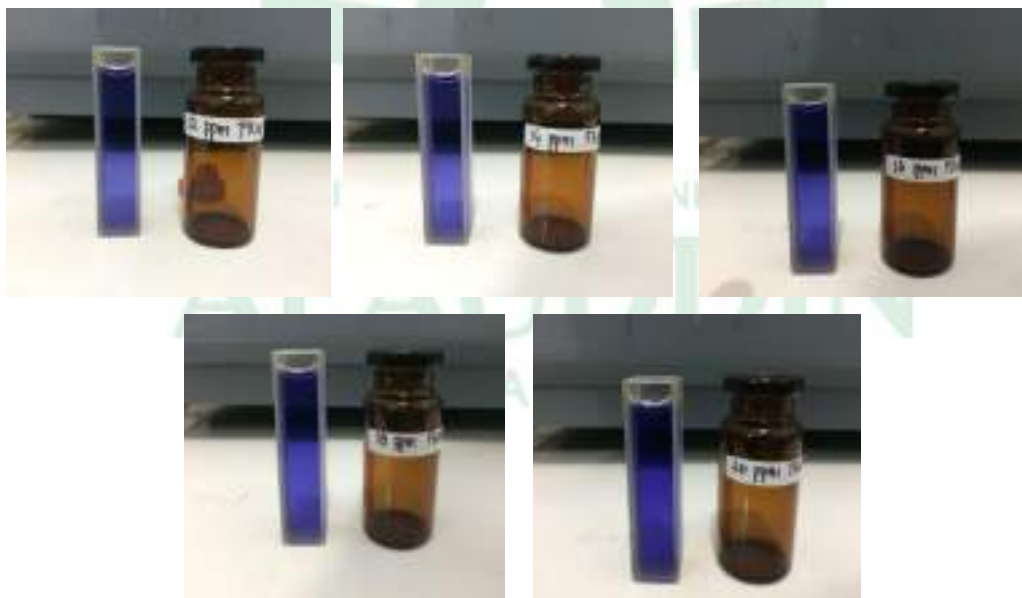
Gambar 18. Deret Konsentrasi Trolox[®] untuk Metode CUPRAC



Gambar 19. Larutan Stok Sampel (500 ppm)



Gambar 20 . Larutan uji Metode CUPRAC (Konsentrasi sampel 500 ppm)



Gambar 21. Deret Konsentrasi Trolox[®] untuk Metode FRAP

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Munadiah lahir di Sinjai Provinsi Sulawesi Selatan, pada tanggal 04 Juni 1995. Penulis merupakan anak kedua dari pasangan Ayahanda Mujahid dan Ibunda St. Nuraeni, S.Pd. Memulai karir pendididkan SD Pada tahun 2001 di SDN 29 Maroanging, Sinjai Timur dan tamat pada tahun 2007

Kemudian penulis melanjutkan pendidikan pada tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMPN) 2 Sinjai Timur pada tahun 2007 dan tamat pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Sinjai pada tahun 2010 dan tamat pada tahun 2013. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan pada jenjang Strata Satu (S1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar yang diberi nama angkatan “FAR13ION”.

